



Complexes de lanthanides(III) pour le développement de nouvelles sondes magnétiques et luminescentes

Aline Nonat

► **To cite this version:**

Aline Nonat. Complexes de lanthanides(III) pour le développement de nouvelles sondes magnétiques et luminescentes. Autre. Université Joseph-Fourier - Grenoble I, 2007. Français. <tel-00179133>

HAL Id: tel-00179133

<https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00179133>

Submitted on 13 Oct 2007

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THESE

Pour obtenir le grade de
DOCTEUR DE L'UNIVERSITE JOSEPH FOURIER

Discipline : CHIMIE

Présentée et soutenue publiquement par

Aline NONAT

le 05 octobre 2007

COMPLEXES DE LANTHANIDES(III) POUR LE DEVELOPPEMENT DE NOUVELLES SONDAS MAGNETIQUES ET LUMINESCENTES

COMPOSITION DU JURY

Pr. L. DI BARI	Université de Pise	Rapporteur
Pr. D. PARKER	Université de Durham	Rapporteur
Dr. G. MATHIS	CIS Biointernational	Examineur
Dr. H. BAZIN	CIS Biointernational	Examineur
Dr. J.-M. LATOUR	CEA Grenoble	Examineur
Dr. C. GATEAU	CEA Grenoble	Invité
Dr. P. FRIES	CEA Grenoble	Invité
Dr. M. MAZZANTI	CEA Grenoble	Directeur de thèse

Laboratoire de Reconnaissance Ionique et Chimie de Coordination
Service de Chimie Inorganique et Biologique, UMR-E 3 CEA-UJF
Département de Recherche Fondamentale sur la Matière Condensée
CEA - Grenoble

A ma famille,

Remerciements

Ce travail de thèse a été effectué au laboratoire de Reconnaissance Ionique et Chimie de Coordination du CEA Grenoble dirigé par Pascale Maldivi, que je remercie pour m'avoir accueillie au sein de son équipe.

Un grand merci également à Marinella Mazzanti, qui a dirigé cette thèse, pour m'avoir initiée à la chimie des lanthanides et pour m'avoir fait partager sa passion pour la recherche. Pendant ces trois ans, chaque jour était comme une veille de Noël : l'attente d'un nouveau résultat ! Merci pour tes idées, ta disponibilité et pour ta confiance qui m'ont permis d'évoluer rapidement au sein du laboratoire, d'élargir mon sujet afin de maîtriser petit à petit les différentes techniques qu'il possède... et même d'autres !!!

Je voudrais remercier les professeurs Lorenzo Di Bari et David Parker pour m'avoir fait l'honneur d'examiner ce mémoire en qualité de rapporteur. Merci beaucoup pour le temps que vous avez pris pour lire et juger ce travail de thèse, qui de plus, est rédigé en français. Je remercie également les docteurs Hervé Bazin, Gérard Mathis et Jean-Marc Latour pour l'intérêt qu'ils ont témoigné pour ce travail en acceptant de faire partie du jury de cette thèse.

Je souhaite remercier Pascal Fries, pour m'avoir initié aux mesures et aux différentes interprétations de la relaxivité. Merci pour l'intérêt que vous avez porté à mon travail : d'un point de vue théorique bien sûr mais aussi pour votre relecture attentive du manuscrit ainsi que pour les nombreuses discussions que nous avons eues au sujet de l'interprétation de mes résultats, de la relaxation électronique...

Je remercie également Christelle Gateau, pour sa disponibilité et pour tous ses bons conseils quand la synthèse organique fait sa difficile. Merci d'avoir poursuivi le travail sur l'étape de bisubstitution du 1,4,7-triazacyclononane... (je n'aurais vraiment pas eu le temps de faire tous ces essais) ainsi que pour ton aide pour la rédaction du manuscrit et pour la préparation de la soutenance.

Je tiens à remercier aussi Lothar Helm pour m'avoir accueillie au sein de son laboratoire pour réaliser les mesures de RMN ^{17}O ainsi que Gabriella pour m'avoir si rapidement transmis tous les tuyaux nécessaires au bon déroulement de mes manip. Merci aussi à Jean-Claude Bünzli et à Daniel pour la réalisation des mesures de luminescence à l'état solide et dans l'infrarouge. Je n'oublie pas Hana Lahrech et surtout Adriana, qui a sacrifié quatre rats et une journée pour tester le $[\text{Gd}(\text{dpaba})(\text{H}_2\text{O})_2]$!

Un grand merci également à Emilie, pour avoir re-synthétisé des ligands quand la matière venait à manquer. Et bravo pour le timing ! Grâce à ton efficacité, les ligands ont été tout juste prêts à temps pour effectuer les mesures de RMN ^{17}O à Lausanne. Merci aussi pour tes dépannages informatiques, de solvants et de produits chimiques...

Merci à Colette pour la réalisation des spectres de masses mais aussi pour son aide très précieuse pour la HPLC. Tu entends même ce que l'on ne dit pas !

Merci à Pierre-Alain pour avoir pris le temps de me former sur les différents spectromètres RMN, pour son aide, en particulier pour l'interprétation des phénomènes d'échange d'isomères en solution et aussi pour tous les petits dépannages...

Merci à Jacques pour la patience dont il a fait preuve en essayant de m'initier à la diffraction des rayons X et pour la résolution des structures cristallographiques. Je pense que grâce à toi, je commence à visualiser des objets tridimensionnels !

Merci également à Zohra pour sa disponibilité et pour l'efficacité dont elle fait preuve pour régler tous les soucis administratifs.

Enfin, je tiens à remercier toute l'équipe du laboratoire pour tous les bons moments passés ensemble, autour d'un thé ou au labo ! Merci à Claire (« Qu'est-ce qui ne va pas Aline ? »), Laurence, Clément, Gregory (encore bravo pour ton efficacité durant ton stage de DEA), Eugen, Pawel, Marie, Pascale, Adrian, Kalai et Andrée mais aussi à ceux qui sont partis : Célia, Andrea, Fabien, Chen, Pierre, Louise et Nick. Je remercie encore Daniel, mon cobureau, de s'être investi dans cette thèse : tant pour la relecture du manuscrit que pour la préparation de la soutenance et surtout de m'avoir fait part de ses conseils éclairés sur la partie luminescence. Je n'oublie pas Marion pour son aide précieuse pour les dernières mesures, pour toutes les discussions enrichissantes que nous avons eues. Je te souhaite bonne chance pour la poursuite du sujet !

Pour terminer, je voudrais remercier ma famille et mes amis, en particulier mes parents et ma soeur, pour m'avoir écoutée, réconfortée, de longues heures au téléphone quand le moral venait à baisser ou la tension à exploser. Merci pour votre soutien ! Merci aussi à Etienne qui a connu pendant ces trois ans les allers-retours en train puis en avion, les « je ne peux pas prendre de vacances, je suis déjà en retard », les micro-ondes du téléphone portable... et le ski de randonnée !

SOMMAIRE

CHAPITRE I : Introduction	11
I. Les lanthanides	13
I.1. Définition	13
I.2. Propriétés fondamentales des Ln(III)	14
I.3. Propriétés magnétiques du Gd(III)	15
I.4. Propriétés spectroscopiques des Ln(III)	16
II. L'Imagerie par Résonance Magnétique (IRM)	18
II.1. Principe	18
II.2. Relaxation et relaxivité	19
II.3. Les agents de contraste commerciaux	20
II.3.1. Les agents de type T ₂	22
II.3.2. Les agents de type T ₁	23
II.4. Les chélates de Gd(III) comme agents de contraste	25
II.4.1. Du Gd-aquo aux complexes de Gd(III)	25
II.4.2. Description théorique de la relaxivité	26
II.4.3. Paramètres influençant la relaxivité de sphère interne	33
II.4.4. Nouvelle génération d'agents de contraste	38
II.5. Exemples d'agents de contraste spécifiques ou bio activables	43
II.5.1. Ciblage de cellules	43
II.5.2. Agents de contraste bio activables ou « intelligents »	44
III. Des chromophores organiques aux complexes de Ln(III) luminescents	47
III.1. Définitions	47
III.1.1. Fluorescence et phosphorescence	47
III.1.2. Rendement quantique	48
III.2. Les chromophores organiques : une luminescence éphémère	48
III.3. Les ions Ln(III) : le concept de luminescence en temps résolu	50
III.4. Les complexes des Ln(III) luminescents	51
III.4.1. Les différentes voies de sensibilisation	51
III.4.2. Conception de chélates de Ln(III) luminescents	54
III.5. Exemples d'application des complexes de Ln(III) pour le diagnostic biomédical	56
III.5.1. Sondes luminescentes	56
III.5.2. Tests immunologiques	57
III.5.3. Imagerie	59
IV. Sondes « bimodales »	61
V. Contexte et objectifs du travail	63

CHAPITRE II : Synthèse des ligands	73
I. Conception des ligands	75
II. Ligands tripodes à pivot 1,4,7-triazacyclononane	79
II.1. Synthèse et caractérisation des ligands à motif picolinate	79
II.1.1. Etude bibliographique : réaction de bisubstitution	80
II.1.2. Synthèse du 1,4-bis[6-carbéthoxy-pyridin-2-yl)méthyl]-1,4,7-triazacyclononane par synthèse directe	85
II.1.3. Synthèse et caractérisation des ligands H ₃ bpatcn, H ₃ ebpatcn, H ₄ pbpatcn et H ₃ mpatcn	88
II.2. Synthèse et caractérisation des ligands à motif hydroxyquinoléine	95
II.2.1. Synthèse et caractérisation du ligand H ₃ thqtcn	96
II.2.2. Synthèse et caractérisation du ligand H ₆ thqtcn-SO ₃	97
III. Ligands tripodes à pivot amine centrale	99
III.1. Synthèse et caractérisation du ligand H₃dpaa	99
III.2. Synthèse et caractérisation du ligand H₄dpaba	100
CHAPITRE III : Sondes magnétiques	107
I. Chélates de Gd(III) mono-aquo	109
I.1. Synthèse des complexes	111
I.2. Etudes structurales en solution	112
I.2.1. Etudes par RMN ¹ H	112
I.2.2. Détermination du nombre de molécules d'eau coordonnées	123
I.2.3. Protonation des ligands et stabilité des complexes	124
I.3. Etude de la relaxivité	134
I.3.1. Relaxivité du complexe [Gd(bpatcn)(H ₂ O)]	134
I.3.2. Relaxivité des complexes [Gd(ebpatcn)(H ₂ O)] et [Gd(pbpatcn)(H ₂ O)] ⁻	141
II. Chélates de Gd(III) bis- et tris-aquo	148
II.1. Synthèse et structure des complexes à l'état solide	151
II.1.1. Complexe de Gd(III) avec le ligand dpaa ³⁻	151
II.1.2. Complexe de Lu(III) avec le ligand dpaa ³⁻	154
II.2. Etudes structurales en solution	155
II.2.1. Etudes par RMN ¹ H	155
II.2.2. Détermination du nombre de molécules d'eau coordonnées	158
II.2.3. Protonation des ligands et stabilité des complexes	160
II.3. Etude de la relaxivité	165
II.3.1. Nouvelle méthode de détermination rapide de k _{ex} et τ _R	165
II.3.2. Relaxivité des complexes [Gd(dpaa)(H ₂ O) ₃], [Gd(dpaa) ₂ (H ₂ O)] ³⁻ et [Gd(dpaba)(H ₂ O) ₂] ⁻	167
II.3.3. Relaxivité du complexe [Gd(mpatcn)(H ₂ O) ₂]	173
II.3.4. Interactions avec les anions endogènes	176
II.3.5. Interaction avec l'albumine sérique	179
II.3.6. Relaxivité dans le sérum	186

CHAPITRE III : Sondes luminescentes	195
I. Complexes luminescents émettant dans le visible	197
I.1. Exemples de complexes avec les ions Eu(III) et Tb(III)	197
I.2. Etude d'une série de podates possédant le chromophore picolinate	200
II. Complexes luminescents émettant dans le proche infrarouge	211
II.1. Exemples de complexes avec les ions Yb(III), Nd(III) et Er(III)	211
II.2. Podates à pivot triazacyclononane possédant le chromophore 8-hydroxyquinoléine	216
II.2.1. Synthèse et étude des complexes avec le ligand H ₃ thqtcn	216
II.2.2. Synthèse et étude des complexes avec le ligand H ₆ thqtcn SO ₃	226
CONCLUSION	135
PARTIE EXPERIMENTALE	239
I. Généralités	241
I.1. Réactifs et solvants	241
I.2. Chromatographies	241
I.3. Caractérisation	243
II. Synthèse des ligands	243
II.1. Ligand H ₃ bpatcn	243
II.2. Ligand H ₃ ebpatcn	248
II.3. Ligand H ₄ pbpatcn	250
II.4. Ligand H ₃ mpatcn	252
II.5. Ligand H ₃ thqtcn	253
II.6. Ligand H ₆ thqtcn-SO ₃	256
II.7. Ligand H ₃ dpaa	257
II.8. Ligand H ₄ dpaba	259
III. Synthèse des complexes de Ln(III)	260
III.1. Ligand bpatcn ³⁻	260
III.2. Ligand ebpatcn ³⁻	262
III.3. Ligand pbpatcn ⁴⁻	263
III.4. Ligand mpatcn ³⁻	264
III.5. Ligand dpaa ³⁻	265

III.6. Ligand dpaba⁴⁻	266
III.7. Ligand thqtcn³⁻	267
III.8. Ligand thqtcn-SO₃⁶⁻	270
IV. Méthodes analytiques	270
IV.1. Etudes potentiométriques	271
IV.2. Mesures de luminescence	273
IV.3. Etudes par Spectroscopie par Résonance Magnétique Nucléaire	276
IV.4. Mesure des temps de relaxation de ¹⁷ O	281
IV.5. Relaxométrie	281
V. Cristallographie	282
ANNEXES	285
PUBLICATIONS	305

Abréviations

ABHF	Ayant-Belorizky-Hwang-Freed
ADN	Acide désoxyribo-nucléique
BSA	Bovin Serum Albumin
COSY	Correlation Spectroscopy
DELFI	Dissociation Enhanced Lanthanide FluoroImmunoAssays
DOTA	1,4,7,10-tétrazacyclododécane-1,4,7,10-tetraacétate
DTPA	Diéthylène triamine pentaacétate
DTPA-BMA	Diéthylène triamine bisamide tétraacétate
EDTA	Ethylène diamine-tétraacétate
EXSY	Exchange spectroscopy
HPLC	High Pressure Liquid Chromatography
HSA	Human serum albumin
IR	Infra-Rouge
IRM	Imagerie par résonance magnétique nucléaire
IS	Inner-sphere
Ln(III)	Cations lanthanides(III)
NBS	<i>N</i> -bromosuccinimide
NMRD	Nuclear magnetic relaxation dispersion
NOE	Effet Overhauser nucléaire
NOESY	Nuclear Overhauser effect spectroscopy
OS	Outer-sphere
PBS	Phosphate Buffer Saline
RMN	Résonance Magnétique Nucléaire
PRE	Paramagnetic relaxation enhancement
RPE	Résonance Paramagnétique Electronique
RX	Rayons X
SMB	Second-sphere
SS	Solomon-Bloembergen-Morgan
tacn / tcn	1,4,7-triazacyclononane
TFA	Acide trifluoroacétique
THF	Tetrahydrofurane
TR-FRET	Time-Resolved Fluorescence Resonance Energy Transfer
UV	Ultra-Violet
ZFS	Zero field splitting

Depuis la découverte des rayons X en 1895 et les premières "radiographies", voilà plusieurs décennies que les techniques d'imagerie médicale font partie intégrante des examens médicaux. Un diagnostic qui permet l'identification et la localisation précise des lésions est primordial car il facilite le choix d'un traitement adapté. Plusieurs techniques d'imagerie permettent de détecter les anomalies du corps : i) la radiographie est basée sur l'utilisation des rayons X ; ii) la scintigraphie et la Tomographie à Emissions de Positons (ou TEP) s'appuient sur les propriétés radioactives d'isotopes introduits dans les molécules injectées au patient et iii) l'Imagerie par Résonance Magnétique (ou IRM) repose sur la réponse des protons de l'eau contenue dans les tissus à un champ magnétique extérieur. Dans ce cas, des images « fonctionnelles », c'est-à-dire qui rendent compte de l'activité d'un organe en fonctionnement (suivi du débit sanguin dans le cerveau en activité par exemple) peuvent être également obtenues. Toutes ces techniques ont fait des progrès considérables grâce auxquels une révolution est en cours aujourd'hui : il s'agit d'observer, avec les mêmes instruments, des événements moléculaires. On parle alors d'imagerie moléculaire. Cette nouvelle discipline fait appel à des « traceurs » ou molécules spécifiques de la cible à étudier (enzymes, marqueurs cellulaires, séquence d'ADN...). L'imagerie moléculaire est beaucoup plus sensible que les techniques classiques : elle permet de déceler des cancers naissants, de suivre l'expression des gènes ou encore de visualiser l'évolution temporelle d'un médicament dans l'organisme.

Les molécules cibles à étudier sont souvent présentes à de très faibles concentrations dans les tissus. De ce fait, leur visualisation n'est possible que si la technique d'imagerie utilisée a une sensibilité élevée. L'IRM permet de visualiser les tissus avec une très bonne résolution spatiale mais sa sensibilité reste le point critique. Dans 30 à 40 % des examens cliniques, des composés paramagnétiques sont injectés au patient. Ils accélèrent la vitesse de relaxation des protons de l'eau et contribuent ainsi à augmenter le contraste entre tissus sains et malades. De ce fait, ces composés sont communément appelés agents de contraste. Toutefois, l'efficacité des agents de contraste utilisés actuellement reste faible et de nombreux efforts de recherches sont réalisés afin d'en améliorer la sensibilité. Une autre technique d'imagerie a également fait son apparition avec le développement de l'imagerie moléculaire : l'imagerie optique, qui consiste à suivre, sous microscope, le cheminement d'une molécule luminescente dans les cellules. La sensibilité de cette technique est meilleure mais sa résolution en profondeur est limitante. Ainsi, des techniques d'imagerie couplant l'IRM à la luminescence permettraient d'observer à la fois l'anatomie et la fonction ou l'activité d'une structure.

Ce travail de thèse est principalement dédié à la compréhension des mécanismes dynamiques et physiques qui gouvernent l'augmentation de contraste d'une image IRM suite à l'injection d'un agent de contraste. Pour cela, de nouveaux agents de contraste potentiels à base de complexes de gadolinium(III) ont été synthétisés et étudiés du point de vue de leur propriétés de coordination, leur efficacité et leur propriétés dynamiques et thermodynamiques. L'utilisation d'autres complexes de lanthanides(III) pour l'élaboration de nouveaux systèmes luminescents a également été envisagée.

I – Introduction

I. Les lanthanides	13
I.1. Définition	13
I.2. Propriétés fondamentales des Ln(III)	14
I.3. Propriétés magnétiques du Gd(III)	15
I.4. Propriétés spectroscopiques des Ln(III)	16
II. L'Imagerie par Résonance Magnétique (IRM)	18
II.1. Principe	18
II.2. Relaxation et relaxivité	19
II.3. Les agents de contraste commerciaux	20
II.3.1. Les agents de type T ₂	22
II.3.2. Les agents de type T ₁	23
II.4. Les chélates de Gd(III) comme agents de contraste	25
II.4.1. Du Gd-aqua aux complexes de Gd(III)	25
II.4.2. Description théorique de la relaxivité	26
II.4.3. Paramètres influençant la relaxivité de sphère interne	33
II.4.4. Nouvelle génération d'agents de contraste	38
II.5. Exemples d'agents de contraste spécifiques ou bio activables	43
II.5.1. Ciblage de cellules	43
II.5.2. Agents de contraste bio activables ou « intelligents »	44
III. Des chromophores organiques aux complexes de Ln(III) luminescents	47
III.1. Définitions	47
III.1.1. Fluorescence et phosphorescence	47
III.1.2. Rendement quantique	48
III.2. Les chromophores organiques : une luminescence éphémère	48
III.3. Les ions Ln(III) : le concept de luminescence en temps résolu	50
III.4. Les complexes des Ln(III) luminescents	51
III.4.1. Les différentes voies de sensibilisation	51
III.4.2. Conception de chélates de Ln(III) luminescents	54
III.5. Exemples d'application des complexes de Ln(III) pour le diagnostic biomédical	56
III.5.1. Sondes luminescentes	56
III.5.2. Tests immunologiques	57
III.5.3. Imagerie	59
IV. Sondes « bimodales »	61
V. Contexte et objectifs du travail	63

Cette introduction est tout d'abord consacrée à la présentation des lanthanides et leurs propriétés magnétiques et spectroscopiques qui rendent leur utilisation incontournable pour l'imagerie médicale. Nous présenterons ensuite la technique d'Imagerie par Résonance Magnétique dans sa globalité, et de manière plus approfondie, les principaux agents de contraste commerciaux utilisés actuellement. Nous verrons également les différents paramètres qui influencent l'efficacité des complexes de gadolinium(III) et l'apport du chimiste de coordination dans l'optimisation de ces paramètres. Pour finir, nous présenterons les avantages des complexes de lanthanides pour l'imagerie optique ainsi que quelques exemples d'applications. Certains points abordés au cours de cette introduction seront analysés plus finement dans les chapitres appropriés.

I. Les lanthanides

1.1. Définition

Les lanthanides sont les 15 éléments de la première période du bloc f, allant du lanthane ($Z = 57$) au lutécium ($Z = 71$). Le lanthane, de configuration électronique $[\text{Xe}]5d^1 6s^2 4f^0$ est inclus par extension. Les autres lanthanides adoptent majoritairement la configuration $[\text{Xe}]6s^2 4f^{n+1}$ et sont représentés en jaune dans le tableau périodique ci-dessous (Figure I. 1). La perte d'un électron 4f et des deux électrons 6s conduit à l'ion lanthanide trivalent qui est le degré d'oxydation le plus stable pour toute la série. C'est à ces ions lanthanides (notés Ln(III) ou Ln^{3+}) que nous nous intéresserons par la suite.

H																	He	
Li	Be											B	C	N	O	F	Ne	
Na	Mg											Al	Si	P	S	Cl	Ar	
K	Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br	Kr	
Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te	I	Xe	
Cs	Ba	La	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb	Bi	Po	At	Rn	
Fr	Ra	Ac	Rf	Db	Sg	Bh	Hs	Mt	Uun	Uuu	Uub							
			Ce	Pr	Nd	Pm	Sm	Eu	Gd	Tb	Dy	Ho	Er	Tm	Yb	Lu		
			Th	Pa	U	Np	Pu	Am	Cm	Bk	Cf	Es	Fm	Md	No	Lr		

Figure I. 1 : Classification périodique des éléments de Mendeleïv.

1.2. Propriétés fondamentales des Ln(III)

Les orbitales 4f ont une faible extension radiale et sont blindées par les couches externes $5s^25p^6$ qui les protègent des perturbations extérieures. Ainsi, les électrons de valence 4f sont peu sensibles à leur environnement chimique et la formation d'une liaison chimique par interaction covalente impliquant des électrons 4f est impossible. L'interaction métal-ligand dans les complexes de Ln(III) est donc décrite par un modèle purement ionique avec une excellente précision. De plus, les ions lanthanides sont des acides durs dans la classification de Pearson.^[1] Ils interagissent préférentiellement avec des ligands durs, contenant par exemple des atomes d'oxygène donateurs (eau, carboxylates, phosphinates, phosphonates...). On parle de leur caractère « oxophile ». Leur forte acidité au sens de Lewis conduit également à l'activation des protons des molécules d'eau coordonnées au cation métallique, donnant lieu à la formation, à partir d'un pH de 6.5 environ, d'hydroxocomplexes de lanthanides insolubles $\text{Ln}(\text{OH})_3$. Une autre conséquence de l'enfouissement des orbitales f dans le nuage électronique est le faible effet du champ des ligands : environ 500 cm^{-1} contre 5000 à $30\,000 \text{ cm}^{-1}$ pour les métaux de transition. Ainsi, contrairement aux métaux d, les niveaux d'énergie des complexes de Ln(III) sont très proches de ceux de l'ion libre. Il en est de même pour leurs propriétés spectroscopiques et magnétiques qui sont prévisibles *a priori*.

A cause du caractère oxophile des ions lanthanides, seuls les ligands durs peuvent déplacer les molécules d'eau fortement liées à l'ion Ln(III) pour donner lieu à la formation de complexes stables en solution aqueuse. Les donateurs durs anioniques de types carboxylate, phosphinate et phosphonate lient fortement les ions trivalents. Aussi, parmi les donateurs neutres, les amines polarisables sont préférées aux oxygènes des éthers.^[2]

Le caractère non directionnel de l'interaction métal-ligand se traduit par une faible préférence stéréochimique dans la coordination. En effet, les nombres de coordination ainsi que les géométries associées sont conditionnés essentiellement par les interactions électrostatiques et stériques entre le cation métallique et les ligands.^[3-5] D'un point de vue électrostatique, ces ions très durs vont accommoder un grand nombre (8-9) d'atomes donateurs, de façon à minimiser l'énergie électrostatique. D'un autre côté, minimiser les contraintes stériques est également très important et un ligand multidenté donné peut imposer une coordination particulière autour de l'ion.

Les nombres de coordination (NC) les plus fréquents des ions Ln(III) sont compris entre 8 et 10 mais des valeurs de 3 à 14 ont déjà été observées à l'état solide. Très souvent, une décroissance globale du nombre de coordination est observée le long de la série (NC ~ 10 pour La^{3+} , NC ~ 8 pour Lu^{3+}). Ceci est associé à une décroissance régulière du rayon ionique, liée à une contraction progressive des orbitales 5s et 5p. Ce phénomène est appelé « contraction lanthanidique » (voir Tableau I. 1).

Lanthanide	CN = 6	CN = 7	CN = 8	CN = 9	CN = 10	CN = 12
La	1,032	1,100	1,160	1,216	1,270	1,360
Ce	1,010	1,070	1,143	1,196	1,250	1,340
Pr	0,990		1,126	1,179		
Nd	0,983		1,109	1,163		1,270
Sm	0,958	1,020	1,079	1,132		1,240
Eu	0,947	1,010	1,066	1,120		
Gd	0,938	1,000	1,053	1,107		
Tb	0,923	0,980	1,040	1,095		
Dy	0,912	0,970	1,027	1,083		
Ho	0,901		1,015	1,072	1,120	
Er	0,890	0,945	1,004	1,062		
Tm	0,880		0,994	1,052		
Yb	0,868	0,925	0,985	1,042		
Lu	0,861		0,977	1,032		

Tableau I. 1 : Rayons ioniques (en Å) des ions Ln(III) pour différents nombres de coordination CN. ^[6]

Pour résumer, les ions lanthanides s'adaptent à différents environnements. Par conséquent, le contrôle de leur polyèdre de coordination est difficile et l'étude de leur chimie de coordination a longtemps été délaissée. Cependant, depuis les vingt dernières années, elle connaît un véritable essor motivé par les nombreuses applications en imagerie médicale précédemment citées^[7, 8] mais aussi en médecine (traitement antalgique par des isotopes radioactifs),^[9] biologie (catalyse de l'hydrolyse de l'ADN),^[10] chimie des matériaux (convertisseurs de lumière)^[12, 13] et dans le retraitement du combustible nucléaire (séparation actinide/lanthanide).^[14, 15]

1.3. Propriétés magnétiques du Gd(III)

Tous les ions lanthanides, à l'exception du La(III) et du Lu(III) sont paramagnétiques. Parmi eux, l'ion Gd(III) est particulièrement intéressant :

- ses sept électrons non appariés ($S = 7/2$) lui confèrent un moment magnétique élevé ;
- son temps de relaxation électronique est long ($T_{1e} > 10^{-9}$ s) en comparaison des autres ions Ln(III) paramagnétiques ($\sim 10^{-13}$ s pour Eu^{3+} , Yb^{3+} et Dy^{3+}) du fait de son état orbital S symétrique.^[16]

Ces deux propriétés sont à l'origine d'un couplage dipolaire efficace entre le moment magnétique du Gd(III) et le moment magnétique des protons à proximité qui induit une augmentation de la vitesse de

relaxation des protons. De ce fait, les complexes de Gd(III) sont largement utilisés comme agents de contraste pour l'Imagerie par Résonance Magnétique.

1.4. Propriétés spectroscopiques des Ln(III)

Tous les ions lanthanides, exceptés le La(III) et le Lu(III) (de configurations respectives $4f^0$ et $4f^{14}$) sont luminescents. Les transitions f-f sont théoriquement interdites par les règles de sélection électrique dipolaire (règle de Laporte et règle du spin). En pratique, le couplage des états électroniques avec les états vibrationnels et les mélanges de fonctions d'ondes de différents nombres quantiques J ou de différentes parités atténuent cette interdiction.

Il en résulte :

- un coefficient d'extinction molaire faible (entre 1 et $10 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$).
- une durée de vie d'émission de luminescence longue pour certains lanthanides (de l'ordre de la milliseconde pour les ions Eu(III) et Tb(III)).

Nous avons vu précédemment (§ I.2.) que le champ cristallin a une faible influence sur les orbitales 4f. Cela se traduit par une absence de variation de la longueur d'onde d'émission du métal en fonction du ligand. De plus, l'absorption et l'émission sont quasi-monochromatiques.

Au cours de la série, différentes efficacités de luminescence des ions Ln(III) sont observées en fonction de la différence d'énergie entre les niveaux excités et le niveau fondamental. Plus la différence d'énergie est faible, plus les processus de désexcitation non radiatifs sont probables. Le diagramme partiel d'énergies des ions Ln(III) aqueux est représenté Figure I. 2. Le Tb(III) et l'Eu(III) ont des temps de vie raisonnables et émettent dans le visible (vert $\lambda_{em} = 550 \text{ nm}$ et rouge $\lambda_{em} = 620 \text{ nm}$ respectivement). Ce sont les ions les plus utilisés pour leur application comme sondes luminescentes pour l'analyse et le diagnostic biomédical. Dans une moindre mesure, le Sm(III) (orange $\lambda_{em} = 590 \text{ nm}$) et le Dy(III) (jaune-orange $\lambda_{em} = 570 \text{ nm}$) sont également employés. L'utilisation des ions émettant dans l'infrarouge (Nd(III) : $\lambda_{em} = 1065 \text{ nm}$, Er(III) : $\lambda_{em} = 1509 \text{ nm}$ et Yb(III) : $\lambda_{em} = 978 \text{ nm}$) est en plein essor. Initialement utilisés dans le développement de fibres optiques, de lasers et d'amplificateurs pour les télécommunications,^[17, 18] ils suscitent aujourd'hui un intérêt remarquable pour le développement de sondes luminescentes pour l'analyse biomédicale. En effet, une émission déplacée vers le rouge permet de s'affranchir de l'absorption des molécules présentes dans le milieu biologique (comme l'hémoglobine par exemple) qui deviennent transparentes aux longueurs d'ondes supérieures à 720 nm. Idéalement, des longueurs d'ondes d'émission comprises dans la fenêtre spectrale 720 nm - 920 nm sont à rechercher puisqu'elles permettent également de s'affranchir de l'absorption de l'eau rendant ainsi possible l'exploration de tissus situés plus en profondeur (20 cm au lieu de quelques millimètres). L'ion Gd(III), en revanche, est peu utilisé car son émission, dans

l'ultraviolet, interfère avec les processus d'absorption ou d'émission des composés organiques et biologiques.

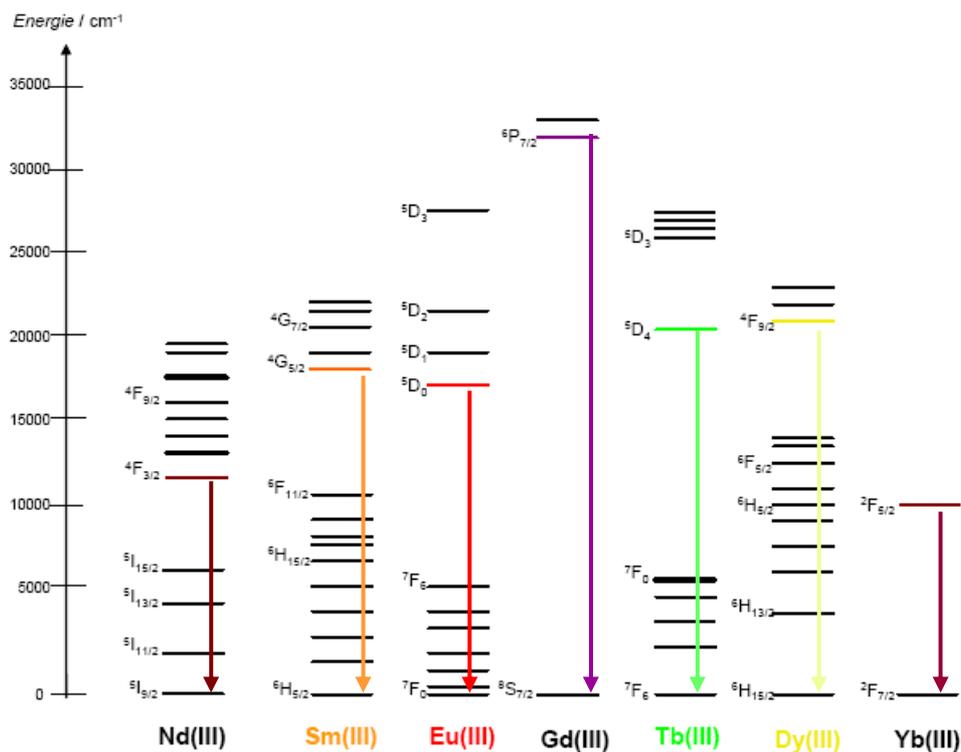


Figure I. 2 : Diagramme partiel d'énergies pour les ions Ln(III) aqueux : principaux niveaux luminescents (en couleur) et leurs niveaux fondamentaux.^[13]

II. L'Imagerie par Résonance Magnétique (IRM)

La technique d'IRM permet d'obtenir une image tridimensionnelle de la répartition de l'eau dans le corps d'un patient. Elle est basée sur l'observation de la résonance magnétique nucléaire (RMN) des protons de l'eau contenue dans l'organisme, c'est à dire sur la réponse des noyaux lorsqu'ils sont soumis à un champ magnétique extérieur et à une excitation électromagnétique.

Suite à la découverte du concept de résonance magnétique nucléaire par F. Bloch et E. M. Purcell en 1946, les premiers développements en imagerie par résonance magnétique ont été réalisés dans les années 1970. Les premières images chez l'homme ont été effectuées en 1979.

II.1. Principe

Le patient est soumis à un champ magnétique statique. Actuellement, des champs de 0.5 T à 3 T sont couramment utilisés en milieu hospitalier. Un gradient linéaire de champ magnétique est également appliqué et permet l'encodage de l'information spatiale de chaque noyau. Ensuite, une impulsion radiofréquence est appliquée et la décroissance temporelle d'induction libre des spins nucléaires mesurée (Figure I. 3).

Pour rappel, le retour à l'équilibre de la composante de l'aimantation nucléaire M_z selon l'axe du champ magnétique suit une loi mono exponentielle avec une constante de temps T_1 , appelée temps de relaxation longitudinale. De même, l'évolution de l'aimantation transversale M_T est caractérisée par une constante T_2 appelée temps de relaxation transversale.

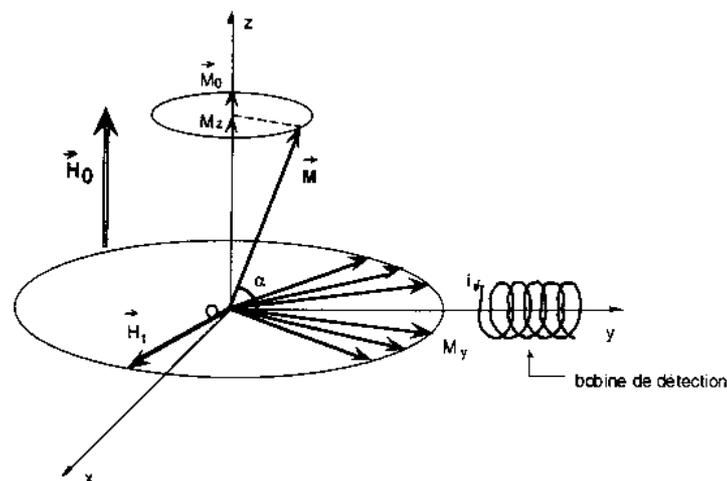


Figure I. 3 : Changement d'aimantation du proton \vec{M} dans un champ constant \vec{H}_0 sous l'effet d'un champ magnétique d'excitation \vec{H}_1 .

L'intensité mesurée pour un élément de volume (voxel) est fonction des temps de relaxation du tissu et est proportionnelle à la concentration de l'eau à l'endroit considéré. Ainsi, il est possible d'observer

différents tissus et la présence d'altérations (telles que des tumeurs) grâce aux différences de densité et de relaxation de l'eau (Tableau I. 2).

Tissus	T ₁ (ms) à 1.7 T	
	<i>sain</i>	<i>tumoral</i>
Foie	140 - 170	300 - 450
Pancréas	180 - 200	275 - 400
Rein	300 - 340	400 - 450
Prostate	250 - 325	350 - 400

Tableau I. 2 : Exemples de temps de relaxation dans différents tissus sains et malades.^[19]

Cependant, pour la plupart des examens IRM, sauf dans le cas de l'imagerie fonctionnelle cérébrale, la sensibilité de la méthode est insuffisante. En effet, malgré une résolution spatiale excellente, il est souvent nécessaire de réaliser une acquisition longue (environ 20 min) afin d'augmenter le rapport signal sur bruit.

Une alternative consiste en l'injection au patient d'un agent de contraste paramagnétique qui va spécifiquement augmenter le contraste des zones à analyser en modifiant les vitesses de relaxation longitudinales et transversales des protons de son entourage. Le contraste entre tissus sains et malades est accru, les images de meilleure qualité et le temps de l'examen raccourci. Actuellement, près de 30% des examens requièrent l'utilisation d'un agent de contraste. L'efficacité d'un agent de contraste, autrement dit sa capacité à augmenter les vitesses de relaxation des protons des molécules d'eau environnantes, est appelée relaxivité.

II.2. Relaxation et relaxivité

Les mécanismes de relaxation d'un noyau au voisinage d'un composé paramagnétique ont été décrits par I. Solomon et N. Bloembergen.^[20, 21] Ainsi, la vitesse de relaxation d'un spin nucléaire I à proximité d'un spin électronique S est la somme d'une contribution diamagnétique, due à la relaxation des noyaux en l'absence de composé paramagnétique, et d'une contribution paramagnétique (Equation I.1).

$$\left(\frac{1}{T_i}\right)_{obs} = \left(\frac{1}{T_i}\right)_{dia} + \left(\frac{1}{T_i}\right)_{para} \quad (i = 1,2) \quad \text{Equation I. 1}$$

La contribution paramagnétique $(1/T_i)_{para}$ est désignée sous le terme d'augmentation paramagnétique de relaxation ou PRE (Paramagnetic Relaxation Enhancement). Elle est liée aux fluctuations temporelles de l'interaction entre le moment magnétique des électrons non appariés de l'ion

paramagnétique et le moment magnétique du noyau. Trois mécanismes peuvent être à l'origine d'une PRE :

- un mécanisme de contact à travers les liaisons, associé à une polarisation de spin de la densité des électrons à l'emplacement du noyau ;
- un mécanisme de pseudocontact à travers l'espace, correspondant à l'interaction dipolaire moyenne entre les moments magnétiques électronique et nucléaire ;
- et, uniquement dans le cas de spins nucléaires de nombre quantique supérieur à 1/2 ($I > 1/2$), une contribution quadrupolaire. Celle-ci est liée à l'interaction entre le moment électrique quadrupolaire (induit par la répartition non sphérique des charges électriques au niveau du noyau) et le gradient de champ électrique au voisinage du noyau.

En particulier, dans le cas d'une interaction avec les protons des molécules de solvant ($I = 1/2$), seule la contribution de pseudocontact intervient. I. Solomon et N. Bloembergen^[20, 21] ont montré qu'elle était proportionnelle à la concentration en espèce paramagnétique c . L'équation I.1 s'écrit donc ainsi :

$$\left(\frac{1}{T_i}\right)_{obs} = \left(\frac{1}{T_i}\right)_{dia} + r_i c \quad (i = 1,2) \quad \text{Equation I. 2}$$

où r_i est la relaxivité de l'espèce paramagnétique et correspond à son efficacité. Ainsi, la relaxivité est définie comme étant la contribution à l'augmentation de la vitesse de relaxation des protons de l'eau apportée par une millimole par litre d'ion paramagnétique. La relaxivité dépend de nombreux paramètres dont l'influence sera détaillée ultérieurement (§ II.4.3).

II.3. Les agents de contraste commerciaux

De nombreux agents de contraste ont été développés au cours de ces vingt dernières années et plusieurs sont commercialisés. Ils peuvent être classés en fonction de leurs propriétés magnétiques et de leur biodistribution.

Les agents sont de type T_1 ou de type T_2 suivant qu'ils affectent la vitesse de relaxation longitudinale $1/T_1$ ou transversale $1/T_2$. Les effets sur les images des deux catégories sont opposés : l'intensité du signal augmente quand $1/T_1$ augmente et diminue quand $1/T_2$ augmente. On parle respectivement d'agents de contraste positifs ou négatifs (Figure I. 4). De plus, des séquences impulsionsnelles pondérées T_1 ou T_2 sont utilisées afin de mettre en avant les changements de T_1 ou de T_2 .

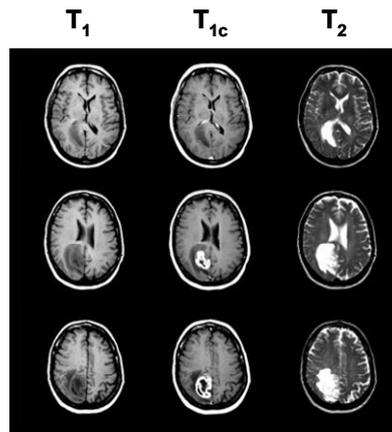


Figure I. 4 : Coupes de cerveau observées par IRM. Observations par une séquence pondérée T_1 sans agent de contraste (T_1), avec un agent de contraste (T_{1c}) et par une séquence pondérée T_2 .

La grande majorité des agents de contraste sont de type T_1 . L'intérêt est double : l'augmentation de la vitesse de retour à l'équilibre $1/T_1$ procure un meilleur contraste mais permet aussi de diminuer le délai entre deux impulsions successives et ainsi de raccourcir le temps d'acquisition. En revanche, la relaxation transversale T_2 correspond à un déphasage de l'aimantation et son temps de retour à l'équilibre n'a pas d'influence sur la durée de l'examen.

La biodistribution d'un agent de contraste dépend essentiellement de sa taille et de sa lipophilie. De nombreux efforts sont réalisés pour la synthèse d'agents de contraste spécifiques de la zone malade à étudier. Pour l'instant, les agents de contraste commerciaux se distinguent en deux grandes catégories : les agents de contraste extracellulaires et intravasculaires.^[16]

La plupart des agents de contraste commerciaux sont des agents extracellulaires de petite taille, diffusant rapidement du sang au liquide interstitiel. Ils sont utilisés principalement pour la détection de tumeurs dans le cerveau. Lorsqu'elle est intacte, la barrière hémato-encéphalique (BHE) est imperméable aux agents de contraste. En revanche, la présence d'une lésion la rend perméable à ces espèces qui vont alors s'accumuler dans la zone malade. Les agents extracellulaires sont éliminés par les reins au bout de 80 minutes environ. Parmi les agents extracellulaires, ceux comportant des groupements lipophiles présentent un intérêt particulier car ils sont susceptibles de s'accumuler dans les hépatocytes (cellules du foie). Ils sont alors qualifiés d'agents hépatobiliaires.^[22]

Les agents intravasculaires sont plus gros et plus lipophiles et leur diffusion vers le liquide interstitiel est ralentie. Ainsi, leur temps de rétention dans le sang est augmenté, ce qui permet de réaliser des acquisitions longues et d'améliorer la résolution spatiale ou le rapport signal/bruit. De plus, ils peuvent être utilisés pour l'imagerie des vaisseaux sanguins et représentent une alternative très intéressante à l'angiographie par rayons X qui est à la fois douloureuse et coûteuse.

II.3.1. Les agents de type T₂

Les agents de contraste superparamagnétiques commerciaux sont constitués de nanoparticules d'oxyde de fer Fe₃O₄. Ce sont des agents de contraste négatifs : par leur moment magnétique très élevé, les particules induisent de fortes variations du champ magnétique local et conduisent à une forte diminution du temps de relaxation transversale T₂. Les nanoparticules ont naturellement tendance à s'agglomérer et deux méthodes de stabilisation sont utilisées (Figure I. 5) :

- une stabilisation stérique (A) par de longues chaînes greffées à la surface de la particule (dextran, carboxydextran, polyéthylène glycol, albumine,...) ;
- une stabilisation électrostatique (B) par des charges présentes à la surface. Pour cela des fonctions carboxylates sont utilisées (citrate, aspartate, acétate,...).

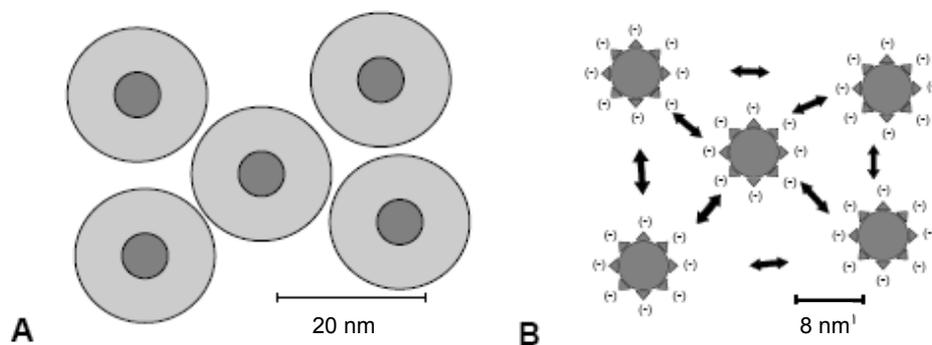


Figure I. 5 : Représentation schématique des deux méthodes de stabilisation des nanoparticules d'oxyde de fer : (A) stérique, (B) électrostatique.

L'enrobage utilisé détermine la taille de la particule, sa biodistribution ainsi que sa pharmacocinétique. Trois types de particules sont utilisées comme agent de contraste : les très petites particules ou USPIO (Ultra Small Particules of Iron Oxide) ($\varnothing < 50$ nm), les petites particules ou SPIO (Small Particules of Iron Oxide) ($50 \text{ nm} < \varnothing < 200$ nm) et les grosses particules ($200 \text{ nm} < \varnothing < \text{plusieurs } \mu\text{m}$).

Les principaux agents de contraste nanoparticulaires commerciaux sont présentés dans le tableau suivant (Tableau I. 3).

<i>Nom commercial</i>	<i>Laboratoire</i>	<i>Type de particule</i>	\varnothing (nm)	r_1 ($mM^{-1}s^{-1}$)	r_2 ($mM^{-1}s^{-1}$)
Endorem	Guerbet	SPIO	200	24	107
Resovist	Schering	SPIO	62	20	197
Abdoscan	GE Healthcare	grosse particule	3500	-	-
Lumirem	Guerbet	grosse particule	300	3.4*	3.8*

* relaxivités mesurées à 1T.

Tableau I. 3 : Caractéristiques des agents de contrastes superparamagnétiques commerciaux. Les relaxivités ont été mesurées à 37°C et 0.5 T.

Les grosses particules sont injectées par voie orale et sont utilisées pour l'exploration des voies gastro-intestinales (intestins, pancréas...). Les SPIO sont rapidement éliminées du sang et s'accumulent dans le système réticuloendothélial du foie et de la rate. Les USPIO, de taille inférieure, présentent un temps de rétention intravasculaire plus élevé et peuvent être utilisées pour l'angiographie.^[22] Des particules de ce type sont actuellement en phase III de développement clinique : le Sinarem (Guerbet) et le Clariscan (Amersham Biosciences).

II.3.2. Les agents de type T₁

Les agents de type T₁ sont principalement des complexes de Gd(III) avec un ligand organique. En effet, l'ion Gd-aqua étant toxique aux doses requises pour l'IRM, celui-ci doit être complexé par un chélate organique avant d'être injecté au patient. Les ligands DOTA⁴⁻ et DTPA⁵⁻ forment des complexes dont les stabilités cinétique et thermodynamique sont suffisantes pour leur utilisation *in vivo* (Figure I. 6). Le complexe Gd(DTPA) est le premier agent de contraste à avoir été approuvé pour une utilisation clinique chez l'homme. Il est commercialisé depuis 1988 sous le nom de Magnevist. Depuis, au moins six autres complexes de Gd(III) avec des ligands polyaminocarboxylates ont été commercialisés. Leurs structures et leurs propriétés sont présentées ci-dessous (Figure I. 6 et Tableau I. 4).

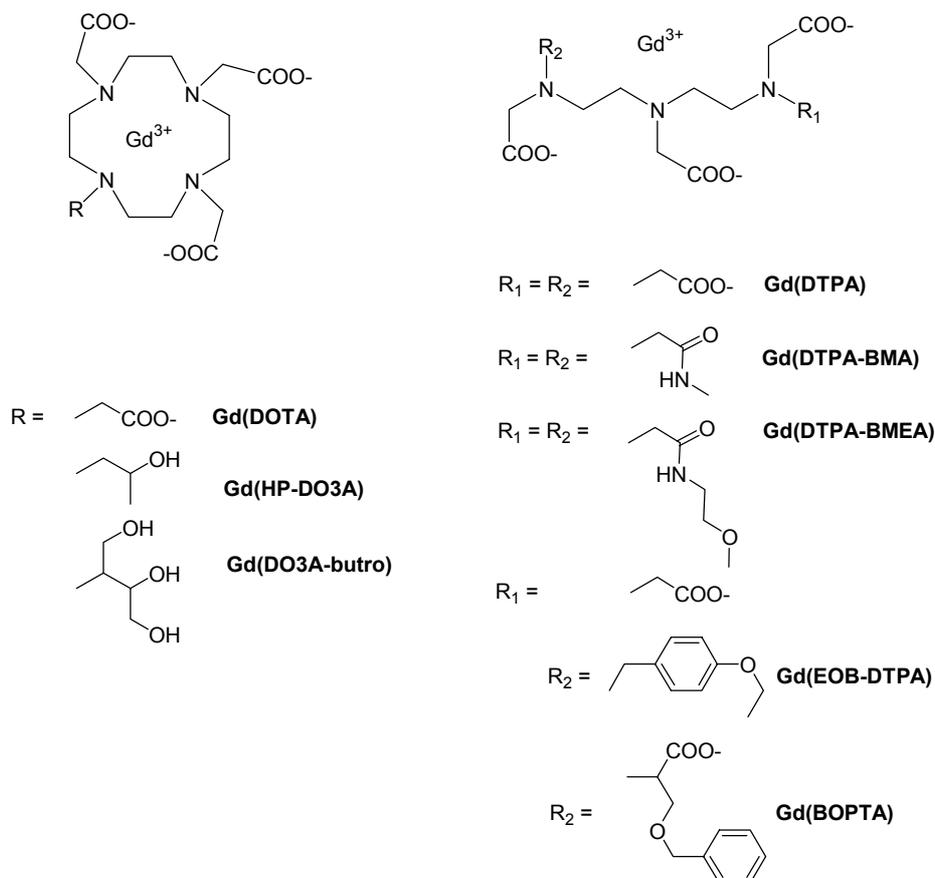


Figure I. 6 : Structure des principaux agents de contraste commerciaux pour l'IRM.

<i>Formule chimique</i>	<i>Nom commercial</i>	<i>Laboratoire</i>	<i>Biodistribution</i>	r_1 ($mM^{-1}s^{-1}$)
[Gd(DTPA)(H ₂ O)] ²⁻	Magnevist	Schering	extracellulaire	4.3
[Gd(DOTA)(H ₂ O)] ⁻	Dotarem	Guerbet	extracellulaire	4.2
[Gd(DTPA-BMA)(H ₂ O)]	Omniscan	GE Healthcare	extracellulaire	4.39
[Gd(DTPA-BMEA)(H ₂ O)]	Optimark	Mallinkrodt	extracellulaire	4.3
[Gd(EOB-DTPA)(H ₂ O)] ⁻	Primovist (Eovist)	Schering	hépatobiliaire/ extracellulaire	5.38
[Gd(HP-DO3A)(H ₂ O)]	ProHance	Bracco	extracellulaire	3.7*
[Gd(DO3A-butrol)(H ₂ O)]	Gadovist	Schering	extracellulaire	5.6
[Gd(BOPTA)(H ₂ O)] ²⁻	MultiHance	Bracco	hépatobiliaire/ extracellulaire	5.2

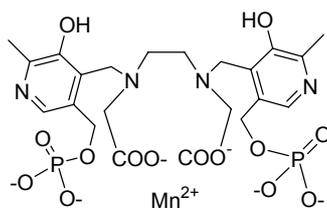
* Valeur mesurée à 40 °C.

Tableau I. 4 : Relaxivités à 20 MHz, pH = 7.34 et 25 °C des principaux agents de contraste commerciaux.^[16]

Tous ces agents sont qualifiés « d'agents de contraste de première génération ». Après injection, ils diffusent rapidement vers le milieu extracellulaire. Les complexes [Gd(**EOB-DTPA**)(H₂O)]⁻ et [Gd(**BOPTA**)(H₂O)]²⁻ sont dérivés du complexe [Gd(**DTPA**)(H₂O)]²⁻ par substitution d'un bras acétate par un groupement comportant un noyau benzénique plus lipophile. De ce fait, leur spécificité vis-à-vis des cellules du foie est augmentée.

Pour tous ces complexes, le métal est lié aux huit atomes donneurs du ligand et à une molécule d'eau. Leur relaxivité à 0.5 T (20 MHz) est faible : 4 à 5 mM⁻¹s⁻¹, ce qui est caractéristique de petits complexes ne possédant qu'une molécule d'eau dans leur sphère de coordination.

Un agent de contraste à base de Mn(II) a également été approuvé cliniquement : le complexe [Mn(H₂**DPDP**)]²⁻ représenté à la Figure I. 7. Il est commercialisé en Europe par GE Healthcare sous le nom de Teslascan. C'est un agent de contraste extracellulaire et hépatobiliaire. Sa relaxivité est de 2.8 mM⁻¹s⁻¹ dans l'eau (à pH 7.4 et 25°C).^[23] Du fait de l'absence de molécules d'eau dans la première sphère de coordination du métal, cette valeur est faible ; elle est associée à la présence d'un cortège de molécules d'eau liées par des liaisons hydrogènes avec le ligand.^[24]

Mn(H₂DPDP)**Figure I. 7 : Agent de contraste extracellulaire commercial à base de Mn(II).**

La dose maximale d'agent de contraste injectée au patient est limitée par la stabilité du complexe dans les conditions physiologiques. Des doses standards de 0.1 mmol/kg de masse corporelle sont utilisées. A ces concentrations, une relaxivité inférieure ou égale à $5 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ ne produit pas un contraste suffisant pour les nouvelles applications de l'IRM. Ainsi, de nombreux efforts sont réalisés pour accéder à des agents de contraste à hautes relaxivités. Dans ce but, nous nous sommes intéressés au développement de complexes de Gd(III) et à la compréhension de l'influence de leur propriétés de compréhension sur la relaxivité.

II.4. Les chélates de Gd(III) comme agents de contraste

II.4.1. Du Gd-aqua aux complexes de Gd(III)

Les propriétés magnétiques d'un agent de contraste paramagnétique sont primordiales pour définir son efficacité. L'agent est d'autant plus efficace que l'interaction entre son moment magnétique électronique et le moment magnétique nucléaire des protons du solvant est importante. Nous avons distingué plusieurs ions paramagnétiques parmi les métaux de transition et les lanthanides : le Gd(III), le Fe(III) et le Mn(II). Même si certains agents de contraste à base de Manganèse et de Fer ont été approuvés pour des usages cliniques, le Gadolinium reste l'élément de choix :

- c'est le seul ion qui possède sept électrons non appariés ($\text{Gd}^{3+} : S = 7/2$, Fe^{3+} et $\text{Mn}^{2+} : S = 5/2$) ;
- son temps de relaxation électronique est long au champ de l'IRM ($T_{1e} \sim 10^{-9} \text{ s}$)^[16]
- il présente un nombre de coordination élevé (CN = 9) lui permettant d'accommoder neuf molécules d'eau d'hydratation qui seront les plus influencées par la présence du centre paramagnétique ;
- l'ion gadolinium ne possède qu'un seul degré d'oxydation stable, empêchant ainsi toute métabolisation *in vivo* par des processus d'oxydoréduction.

Cependant, l'aqua-ion Gd^{3+} est toxique aux doses requises pour l'IRM.^[25] Cette toxicité provient essentiellement de la similitude de son rayon ionique avec celui du Ca(II), qui conduit à une compétition avec le calcium humain à l'origine d'un dérèglement des canaux calciques empêchant ainsi la transmission neuromusculaire. D'autres métaux endogènes peuvent, dans une moindre mesure,

donner lieu à des réactions de transmétallation : le Zn(II) et le Cu(II). De plus, l'ion Gd(III) libre peut interagir avec les protéines du sérum (albumine...) ou avec les anions endogènes (phosphates, carbonates ou hydroxydes) pour se déposer, sous forme de sels insolubles, sur les os, le foie et la rate.

La complexation du Gd(III) par un chélate organique permet d'éviter toute toxicité et de garantir l'excrétion rapide de l'agent paramagnétique de l'organisme.

Cependant, le complexe formé doit posséder plusieurs propriétés indispensables :

- forte solubilité dans l'eau à pH physiologique car des solutions de concentration 0.1 M à 1M sont injectées ;
- stabilités thermodynamique et cinétique suffisantes pour éviter le relargage du Gd-aqua dans l'organisme. En effet, les cations endogènes comme l'ion Ca(II) et, dans une moindre mesure les ions Zn(II) et Cu(II) peuvent donner lieu à des réactions de transmétallation. Les ligands endogènes comme les oxoanions (carbonate, phosphate...) ou les groupements latéraux des acides aminés des protéines peuvent également donner lieu à des réactions de compétition avec le ligand.
- faible osmolarité, car l'augmentation de l'osmolarité du sang peut provoquer un dérèglement du fonctionnement des reins ;
- De plus, le ligand ne doit pas saturer la sphère de coordination du Gd(III) mais laisser au moins un site de coordination vacant pour qu'une molécule d'eau (au moins) puisse se coordonner, s'échanger avec le solvant et assurer ainsi le transfert de l'information paramagnétique.

La conception du ligand est primordiale car c'est lui qui, par son architecture et sa composition chimique, va déterminer les propriétés du complexe. L'un des enjeux majeur est de pouvoir accéder à des complexes solubles dans l'eau et dont la stabilité thermodynamique et cinétique est suffisante. De plus, de nombreux paramètres déterminant la relaxivité sont influencés par l'architecture du complexe. Afin de les mettre en évidence, nous devons nous intéresser au mécanisme de relaxivité des complexes de Gd(III).

II.4.2. Description théorique de la relaxivité

Nous avons vu précédemment que la contribution principale à la relaxation des protons de l'eau provient d'une interaction entre le spin nucléaire des protons et le spin électronique du Gd(III). Cette interaction d'origine dipolaire diminue rapidement avec la distance r_{GdH} . Trois catégories de molécules d'eau sont distinguées :

- l'eau en première sphère de coordination, directement liée au centre métallique ;
- l'eau de sphère externe, pour laquelle l'interaction avec le Gd(III) est gouvernée uniquement par les phénomènes de diffusion translationnelle ;

- et l'eau en deuxième sphère de coordination, le plus souvent liée au complexe par des liaisons hydrogènes via le ligand ; son temps de résidence à la surface du complexe est supérieur au temps de diffusion translationnelle de l'eau libre.

Trois mécanismes de relaxation différents sont respectivement associés : le mécanisme de sphère interne (ou inner-sphere IS), le mécanisme de seconde sphère (ou second-sphere SS) et le mécanisme de sphère externe (ou outer-sphere OS). La représentation schématique de ces mécanismes est donnée Figure I. 8.

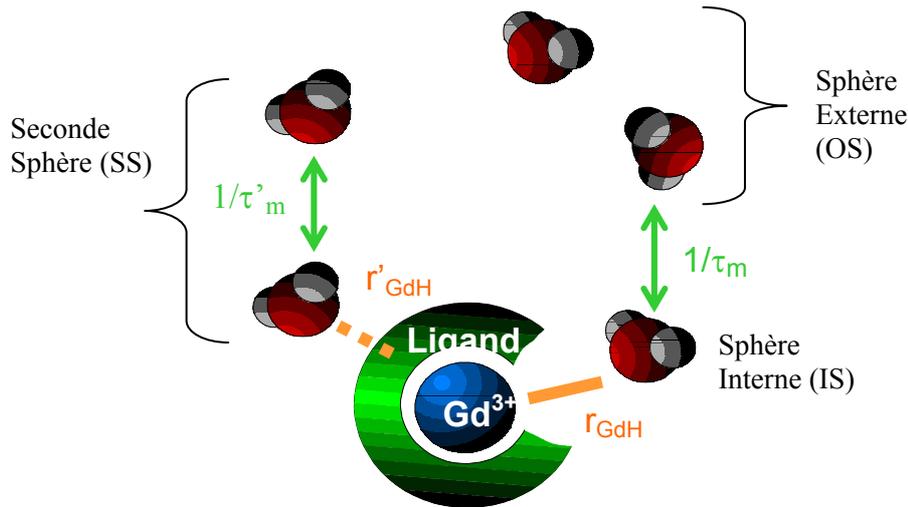


Figure I. 8 : Représentation schématique d'un complexe de Gd(III). τ_m est le temps de résidence d'une molécule d'eau en première sphère (IS), τ'_m le temps de résidence d'une molécule d'eau en deuxième sphère (SS).

L'augmentation paramagnétique de relaxation (PRE) est alors la somme des trois contributions (Equation I. 3), il en est de même pour la relaxivité (Equation I.4).

$$\left(\frac{1}{T_i}\right)_{para} = \left(\frac{1}{T_i}\right)^{IS} + \left(\frac{1}{T_i}\right)^{OS} + \left(\frac{1}{T_i}\right)^{SS} \quad i = 1, 2 \quad \text{Equation I. 3}$$

$$r_i = r_i^{IS} + r_i^{OS} + r_i^{SS} \quad i = 1, 2 \quad \text{Equation I. 4}$$

Les agents de contraste à base de Gd(III) étant principalement des agents de type T₁, nous nous limiterons dans l'introduction à la description de la relaxivité longitudinale r₁.

- **Mécanisme de sphère interne (IS)**

La contribution paramagnétique de sphère interne résulte de l'échange des molécules d'eau en première sphère de coordination avec le solvant. Pour les complexes dont la sphère de coordination n'est pas saturée, cette contribution est en général prépondérante. Le mécanisme de relaxivité de

sphère interne est décrit par la théorie de Solomon-Bloembergen-Morgan (SBM) qui repose sur les approximations suivantes :^[26]

- le spin électronique est assimilé à un dipôle ponctuel localisé sur l'ion métallique ;
- le complexe est assimilé à une sphère, sa rotation est isotrope ;
- le facteur de Landé g est isotrope ;
- les fonctions de corrélation (τ_R, τ_m, \dots) ont toutes la même forme exponentielle ;
- seule la levée de dégénérescence transitoire des niveaux électroniques de spin du Gd(III) est prise en compte.

Dans ce cadre, l'augmentation paramagnétique longitudinale est la suivante (Equation I. 5) :

$$\frac{1}{T_1^{IS}} = \frac{qP_m}{T_{1m} + \tau_m} = \frac{c}{55.5} \frac{q}{T_{1m} + \tau_m} \quad \text{Equation I. 5}$$

Avec :

- P_m la fraction molaire des molécules de solvant en première sphère de coordination ;
- q le nombre de molécules d'eau liées par centre métallique ;
- c la concentration molaire en ion paramagnétique ;
- T_{1m} le temps de relaxation longitudinale du proton d'une molécule d'eau dans l'hypothèse d'une coordination infinie de cette molécule d'eau ;
- τ_m le temps moyen de résidence des molécules d'eau dans la première sphère de coordination.^[27, 28]

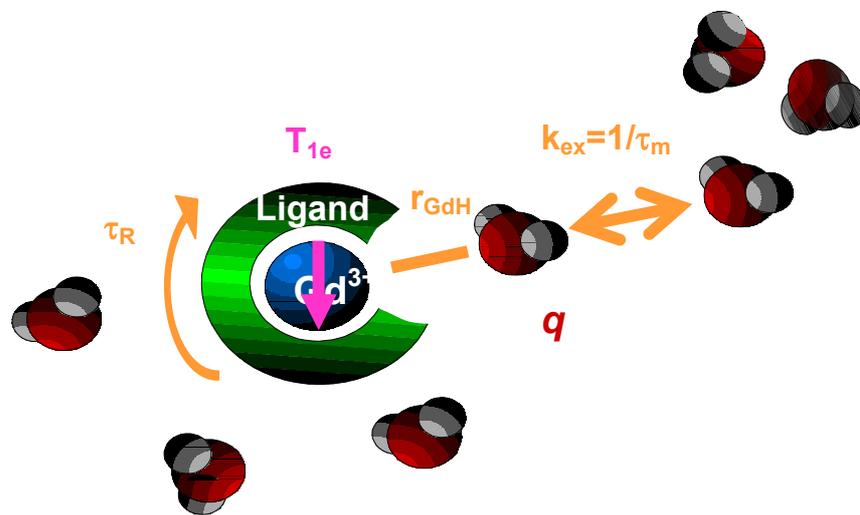


Figure I. 9 : Représentation schématique du mécanisme de sphère interne et des différents paramètres.

La relaxation des protons de l'eau liée T_{1m} est gouvernée par l'interaction dipôle-dipôle. En effet, la liaison de l'eau au centre métallique étant purement électrostatique et la densité électronique faible à l'emplacement du proton, l'interaction scalaire (ou de contact) est négligée.^[22] La variation de T_{1m} en

fonction du champ magnétique est donnée par les équations de Solomon-Bloembergen modifiées (Equation I. 6) : ^[20, 21]

$$\frac{1}{T_{1m}} = \frac{2}{15} \frac{\gamma_I^2 g^2 \mu_B^2 S(S+1)}{(r_{GdH})^6} \left[\frac{3 \tau_{c1}}{(1 + \omega_I^2 \tau_{c2}^2)} + \frac{7 \tau_{c2}}{(1 + \omega_S^2 \tau_{c2}^2)} \right] \quad \text{Equation I. 6}$$

Avec :

- S le nombre quantique de spin électronique ;
- γ_I le rapport gyromagnétique nucléaire du proton ;
- μ_B le magnéton de Bohr ;
- g le facteur de Landé pour l'électron libre ;
- r_{GdH} la distance entre le spin nucléaire I (du proton) et le spin électronique S ;
- ω_I et ω_S les fréquences de Larmor pour le proton et l'électron ($\omega_S = 658 \omega_I$) ;
- τ_{ci} (i = 1,2) le temps de corrélation relatif à la dynamique du couplage S-I.

Plusieurs facteurs peuvent moduler l'interaction entre les deux spins : le temps de corrélation rotationnelle du complexe (τ_R), le temps moyen de résidence des molécules d'eau dans la première sphère de coordination (τ_m) et le temps de relaxation électronique du Gd(III) (T_{ie}) (voir Equation I. 7) :

$$\frac{1}{\tau_{ci}} = \frac{1}{T_{ie}} + \frac{1}{\tau_R} + \frac{1}{\tau_m} \quad \text{Equation I. 7}$$

Notons que les deux termes entre crochets de l'Equation I. 6 sont responsables d'une baisse importante de la relaxivité à haut champ ($\omega_I^2 \tau_{ci}^2 > 1$).

Comme les temps de relaxation nucléaire, les temps de relaxation électronique varient en fonction du champ magnétique. Pour les complexes de Gd(III), T_{ie} est lié à la modulation temporelle de la levée de dégénérescence des niveaux électroniques de spin du Gd(III) (« Zero Field Splitting » ou ZFS). Une description précise fait intervenir deux contributions : d'une part, la fluctuation moyenne du ZFS (ZFS statique) causée par la rotation brownienne du champ moyen du ligand accompagnant celle du complexe dans le référentiel moléculaire et d'autre part, celle liée aux vibrations du champ de ligand (ZFS transitoire ou transient).^[29] Une description simplifiée, prenant en compte uniquement la partie vibratoire du ZFS, est donnée par la théorie de Bloembergen et Morgan (Equations I. 8 à I. 10) : ^[20, 30]

$$\frac{1}{T_{1e}} = 2C \left(\frac{1}{1 + \omega_S^2 \tau_v^2} + \frac{4}{1 + 4\omega_S^2 \tau_v^2} \right) \quad \text{Equation I. 8}$$

$$\frac{1}{T_{2e}} = C \left(\frac{5}{1 + \omega_S^2 \tau_v^2} + \frac{2}{1 + 4\omega_S^2 \tau_v^2} + 3 \right) \quad \text{Equation I. 9}$$

$$C = \frac{1}{50} \Delta_T^2 \tau_v [4S(S+1) - 3] \quad \text{Equation I. 10}$$

Avec :

- Δ_T^2 le carré de l'amplitude de l'éclatement à champ magnétique nul ;
- τ_v le temps de corrélation associé à la modulation vibrationnelle de la levée de dégénérescence.

Δ_T^2 et τ_V sont reliés au temps de relaxation électronique à champ nul τ_{S0} par la relation suivante :

$$\frac{1}{\tau_{S0}} = \frac{1}{5} \Delta_T^2 \tau_V [4S(S+1) - 3] \quad \text{Equation I. 11}$$

Cette description met en évidence les paramètres importants à contrôler pour maximiser la relaxivité :

- le nombre d'hydratation du complexe q ;
- la distance spin nucléaire - spin électronique r_{GdH} pour une molécule d'eau coordonnée ;
- le temps de corrélation rotationnelle du complexe τ_R ;
- la vitesse d'échange $k_{ex} = 1/\tau_m$ des molécules d'eau coordonnées avec le solvant ;
- les temps de relaxation électronique T_{1e} et T_{2e} .

Comme nous allons le voir au paragraphe suivant, ces paramètres sont fortement influencés par les propriétés structurales du ligand.

De plus, cette description met en évidence l'influence du champ magnétique (ω_I , ω_S) sur la relaxation électronique (Equations I. 8), et de manière plus générale, sur relaxivité de sphère interne (Equations I. 5, I. 6). L'étude de la relaxivité en fonction du champ est donc primordiale pour la caractérisation d'un agent de contraste. La mesure des temps de relaxation en fonction du champ magnétique est appelée relaxométrie. Un profil relaxométrique ou NMRD (Nuclear Magnetic Relaxation Dispersion) correspond au tracé de la relaxivité mesurée en fonction du champ. Pour des champs supérieurs à 0.47 T (20 MHz), les temps de relaxations sont mesurés sur des spectromètres RMN. Cependant, il est également intéressant de mesurer la relaxivité de solutions de complexes de Gd(III) à des champs plus faibles, inaccessibles par les méthodes de spectroscopies RMN classiques. Pour cela, une nouvelle technique expérimentale utilisant un cyclage rapide de champ magnétique a été développée. Depuis le milieu des années 1990, des relaxomètres sont commercialisés par la société italienne STELAR. Le principe de fonctionnement du relaxomètre est détaillé dans la partie expérimentale (§ IV.5).

L'allure du profil NMRD permet d'accéder à une interprétation qualitative des mécanismes de relaxation. En effet, à bas champs ($\leq 3-4$ MHz), c'est le temps de relaxation électronique qui domine les fluctuations de l'interaction dipôle-dipôle et détermine la relaxivité. A des champs plus élevés (> 4 MHz), c'est le temps de corrélation rotationnelle τ_R qui est dominant et génère un extremum autour de 30 MHz (Figure I. 10). La valeur de ce maximum est fortement influencée par le temps de résidence des molécules d'eau en première sphère de coordination τ_m (Figure I. 11).

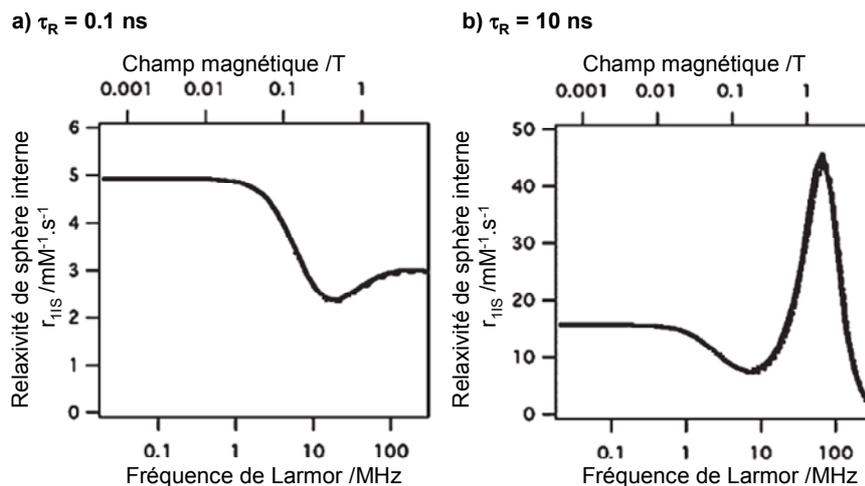


Figure I. 10 : Relaxivité de sphère interne calculée (modèle SBM) pour $q = 1$, $\Delta_v = 0.05 \text{ cm}^{-1}$, $\tau_v = 10 \text{ ps}$, $\tau_m = 100 \text{ ns}$ dans l'hypothèse d'une rotation a) rapide, $\tau_R = 0.1 \text{ ns}$ et b) lente, $\tau_R = 10 \text{ ns}$. D'après la référence [31].

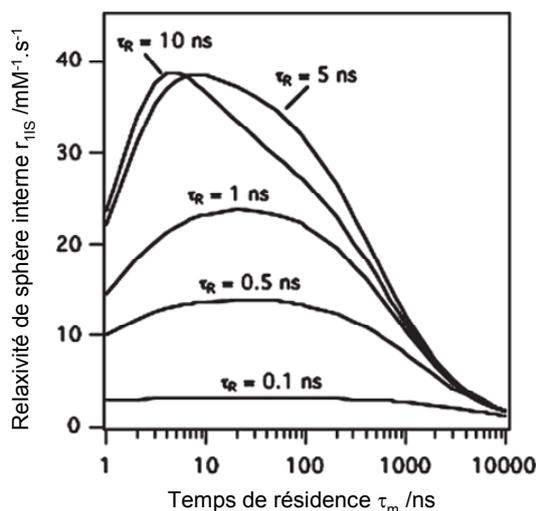


Figure I. 11 : Relation entre la diffusion rotationnelle et l'échange de l'eau pour un complexe de Gd(III) correspondant aux paramètres suivants : $q = 1$, $T_{1e} > 10 \text{ ns}$ à $B_0 = 1.5 \text{ T}$. D'après la référence [31].

- Mécanisme de sphère externe (OS)

La contribution de sphère externe provient de l'interaction dipolaire entre le spin nucléaire et le spin électronique, lorsque les molécules de solvant diffusent à proximité du complexe. Le mécanisme est caractérisé par la distance minimale d'approche a_{GdH} entre la molécule d'eau et l'ion paramagnétique et par le coefficient de diffusion relatif D d'une molécule d'eau par rapport au complexe. Cette contribution est décrite par le modèle de Ayant-Belorisky-Hwang-Freed (ABHF) (Equations I. 12 et I. 13). [32, 33, 34, 35, 36]

$$\frac{1}{T_1^{OS}} = \frac{8\pi}{5} \gamma_I^2 \gamma_S^2 \hbar^2 S(S+1) \left[j \left(\frac{1}{T_{1e}} + i\omega_I \right) + \frac{7}{3} j \left(\frac{1}{T_{2e}} + i\omega_S \right) \right] \quad \text{Equation I. 12}$$

Avec :

- S le nombre quantique de spin électronique ;
- γ_I, γ_S les rapports gyromagnétiques du proton et de l'électron ;
- \hbar la constante de Planck ;
- T_{ie} le temps de relaxation électronique du Gd(III) ;
- ω_I et ω_S les fréquences de Larmor pour le proton et l'électron.

Le temps caractéristique est un temps de corrélation diffusionnelle τ_D , tel que $\tau_D = a_{GdH}^2/D$. La densité spectrale $j(\sigma)$ est la transformée de Fourier des fonctions de corrélation temporelles τ_D et τ_v (associées à T_{ie}). Dans le cas d'un complexe de Gd(III) assimilé à une sphère, elle peut être exprimée ainsi :

$$j(\sigma) = \frac{10^{-6} N_A c}{Da_{GdH}} \operatorname{Re} \left[\frac{4+x}{3(9+9x+4x^2+x^3)} \right] \quad \text{avec } x \equiv \sqrt{\sigma\tau_D} \quad \text{Equation I. 13}$$

Avec :

- c la concentration en espèce paramagnétique en mM ;
- N_A le nombre d'Avogadro ;
- D le coefficient de diffusion relatif d'une molécule d'eau par rapport au complexe ($D = D_I + D_S$) ;
- a_{GdH} la distance minimale d'approche entre un proton d'une molécule d'eau diffusant librement et l'ion paramagnétique.

Cette contribution est typiquement de l'ordre de 2 à 3 $\text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ à 25°C et à 20 MHz (0.5 T).^[37]

- **Mécanisme de seconde sphère (SS)**

Les molécules d'eau en interaction spécifique avec le ligand (liaisons hydrogènes principalement) ne sont pas correctement représentées par un simple modèle de sphères dures. Le mécanisme de sphère externe ne peut donc pas leur être appliqué. Cette contribution n'est en général pas considérée pour l'évaluation de la relaxivité des complexes. Elle devient importante lorsque le temps de résidence τ_m' des molécules d'eau dans la deuxième sphère de coordination est supérieur au temps de corrélation diffusionnel τ_D ($\tau_D = a_{hyd}^2/D$). Dans ce cas, R. B. Lauffer et ses collaborateurs ont montré que le phénomène pouvait être décrit, en première approximation, de manière analogue à la relaxivité de sphère interne (IS) en ajustant la vitesse d'échange τ_m' et la distance du proton au centre métallique r'_{GdH} (Figure I. 8).^[38-40]

Plusieurs exemples d'une telle contribution ont été reportés dans la littérature. Notamment, une très forte contribution de seconde sphère a été obtenue par l'incorporation d'unités glucose ou galactose autour d'un complexe $[\text{Gd}(\text{DOTA})(\text{H}_2\text{O})]^-$.^[41] Deux dendrimères ont été synthétisés dont l'un est représenté ci-dessous (Figure I. 12).

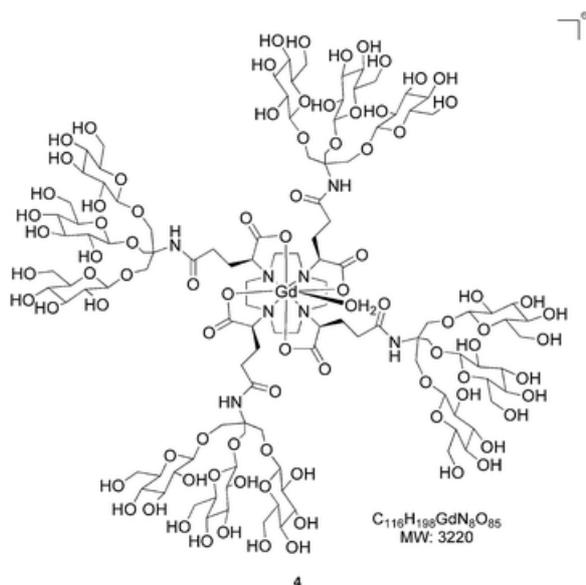


Figure I. 12 : Dendrimère dérivé du $[Gd(DOTA)(H_2O)]^-$ possédant 12 unités glucose.

La relaxivité à 20 MHz et à 25°C est très élevée ($r_1 \sim 25 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$), en accord avec une contribution de seconde sphère de $10 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ associée à la présence de 8 molécules d'eau en liaison hydrogène avec les groupement hydroxyle des sucres terminaux.

II.4.3. Paramètres influençant la relaxivité de sphère interne

Nous avons vu que de nombreux paramètres influencent la relaxivité et que leur contribution est fortement influencée par le champ magnétique. Néanmoins, il est difficile d'obtenir une détermination précise de ces paramètres par l'étude du seul profil NMRD. En particulier, il est très difficile de séparer les contributions relatives de sphère interne et de sphère externe. Il est donc nécessaire de déterminer un maximum de paramètres de façon indépendante. Des efforts considérables ont été réalisés et des méthodes de détermination fiables des différents paramètres ont été mises au point. De plus, en vue d'accéder à la synthèse de complexes possédant une relaxivité optimale, l'influence des propriétés structurales des complexes doit être également étudiée. Nous présentons ici, pour chaque paramètre, les méthodes classiques de détermination et comment il peut être ajusté par l'architecture du complexe.

- **Nombre de molécules d'eau coordonnées, q**

Les équations de Solomon-Bloembergen-Morgan indiquent que la relaxivité de sphère interne est proportionnelle au nombre q . De plus, c'est avec la contribution de seconde sphère, le seul paramètre ajustable par le chimiste dont l'augmentation s'accompagne d'une amélioration de la relaxivité quel que soit le champ magnétique. Cependant, l'augmentation de q est associée à une diminution du nombre de coordination du complexe et s'accompagne généralement d'une diminution de stabilité thermodynamique et/ou cinétique. De plus, des ligands endogènes (anions, protéines) peuvent, en se

coordonnant au centre métallique, déplacer les molécules d'eau en première sphère et éteindre la relaxivité. En pratique, les agents de contraste commerciaux possèdent une seule molécule d'eau dans leur sphère de coordination. Un des challenges actuels consiste à trouver un compromis entre stabilité et efficacité.

La méthode la plus fréquemment utilisée pour la détermination de q est la mesure des temps de vie de luminescence des complexes de Tb(III) et d'Eu(III) dans l'eau et dans D₂O. Cette méthode est décrite en Annexe 1. Il est également possible de déterminer le paramètre q par l'étude du déplacement induit par le complexe de Dy(III) sur la résonance du noyau ¹⁷O de la molécule d'eau.^[22]

- **Distance Gd(III)-proton, r_{GdH}**

La relaxivité de sphère interne est une fonction de $(r_{GdH})^{-6}$. Ce paramètre a donc une influence importante sur la relaxivité. Par exemple, une diminution de la distance de 0.1 Å correspond à une augmentation de la relaxivité de 20%. Sa détermination doit être précise. En pratique, la distance r_{GdH} est souvent calculée à partir de la distance Gd(III)-O, elle-même déterminée à l'état solide par l'étude des structures cristallographiques ou ajustée arbitrairement. Récemment, une étude par spectroscopie ENDOR (Electron Nuclear Double Resonance) a été réalisée par P. Caravan et ses collaborateurs sur l'ion Gd-aqua et sur un complexe avec un ligand polyaminocarboxylate, le [Gd(HPDO₃A)(H₂O)]. La distance r_{GdH} est identique dans le cas de l'ion aqua et du complexe ; elle est égale à 3.1 Å.^[42] Ce résultat est en accord avec les données cristallographiques obtenues précédemment^[16] et est conforté par d'autres expériences ENDOR réalisées sur différents complexes de Gd(III).^[43] Ainsi, le paramètre r_{GdH} peut être, dans une bonne approximation, considéré comme indépendant de l'architecture du complexe et fixé à 3.1 ± 0.1 Å

- **Echange des molécules d'eau, $k_{ex} = 1/\tau_m$**

La vitesse d'échange des molécules d'eau k_{ex} est définie comme l'inverse de leur temps de résidence dans la première sphère de coordination τ_m .

L'échange de l'eau à la surface d'un complexe de Ln(III) peut avoir lieu selon plusieurs mécanismes limites (Figure I. 13) :^[44]

- un mécanisme dissociatif D pour lequel un intermédiaire possédant un nombre réduit de molécules d'eau dans la sphère de coordination est observé,
- un mécanisme associatif A dont l'intermédiaire possède un nombre supérieur de molécules d'eau
- et un mécanisme I, où aucun intermédiaire cinétique ne peut être identifié. Il se distingue en deux catégories I_d ou I_a selon que l'étape cinétiquement lente soit la dissociation ou l'association.

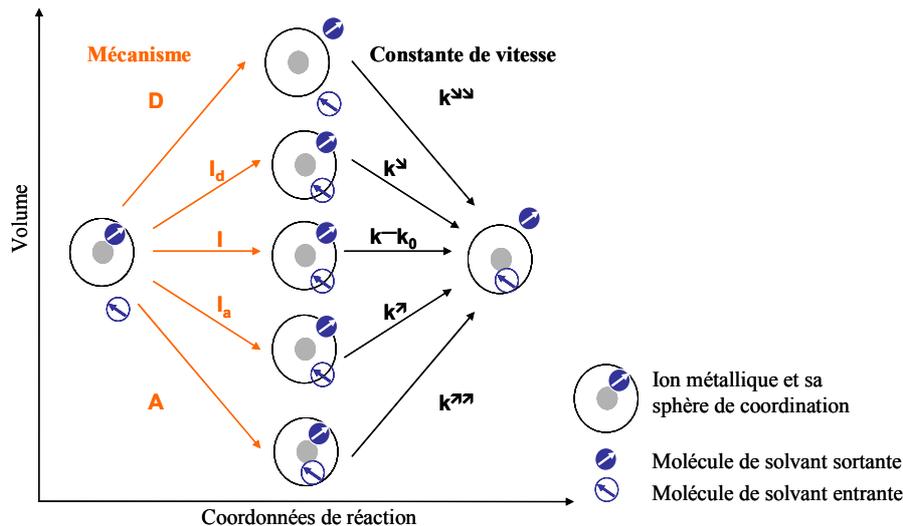


Figure I. 13 : Représentation schématique des mécanismes d'échange d'une molécule de solvant.

Au vu de l'équation I.5, la vitesse d'échange des molécules d'eau a une double influence sur la relaxivité :

- soit le temps de résidence des molécules d'eau τ_m est très long ($\tau_m \gg T_{1m}$) et l'échange de l'eau est le seul paramètre limitant la relaxivité ;
- soit le temps de résidence τ_m est court ($\tau_m \ll T_{1m}$) et c'est le temps de relaxation longitudinale intrinsèque du proton d'une molécule d'eau T_{1m} qui limite la relaxivité. Or nous avons vu en introduction que T_{1m} dépend également de la vitesse d'échange de l'eau ainsi que d'autres paramètres (rotation, relaxation électronique).

Ainsi, dans le cas de complexes macromoléculaires ($PM > 5000$ Da), c'est souvent la vitesse d'échange des molécules d'eau qui limite la relaxivité.

La vitesse d'échange des molécules d'eau dans la sphère de coordination d'un complexe donné est très sensible à de légères modifications de l'arrangement des atomes au niveau du centre métallique. On considère en général qu'elle est optimale pour une valeur de k_{ex} proche de $1.10^{-8} s^{-1}$.

Classiquement, cette vitesse est déterminée par la mesure du temps de relaxation transversal (T_2) de l'oxygène ^{17}O d'un solvant marqué, en présence et en absence d'agent paramagnétique, à différentes températures. La méthode est décrite en Annexe 2.

- **Rotation**

Aux champs de l'IRM utilisés actuellement (0.5 -1.5T), la relaxivité des petits chélates de gadolinium est limitée par leur vitesse de rotation élevée en solution. Cette vitesse peut être ralentie en augmentant leur poids moléculaire et de nombreuses techniques de synthèse de composés macromoléculaires ont été développées. En revanche, aux champs élevés des nouveaux imageurs (7 – 9.5 T), la relaxivité la plus élevée est obtenue pour des complexes de tailles intermédiaires. La Figure I. 14 donne la

relaxivité de sphère interne calculée par la théorie de Solomon-Bloembergen-Morgan pour des complexes mono-aqua de divers temps de corrélation rotationnelle τ_R et dont la vitesse d'échange est optimale ($k_{ex} = 1.10^{-8} \text{ s}^{-1}$). La relaxivité maximale aux hauts champs est atteinte pour des valeurs de τ_R comprises entre 400 et 1000 ps. Dans le cas d'une cinétique de rotation plus lente, une diminution de la relaxivité est observée. Cette diminution est engendrée par la dispersion en champ du paramètre τ_R : quand $\omega_I \tau_R^2 \gg 1$, T_{1m} augmente et la relaxivité diminue.

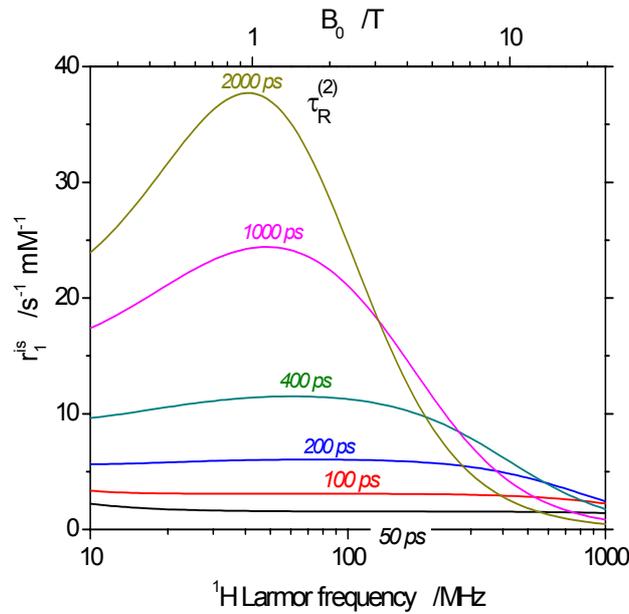


Figure I. 14 : Contribution de sphère interne à la relaxivité simulée par la théorie SBM pour des complexes mono-aqua de vitesse d'échange optimale : $q = 1$, $k_{ex} = 1.10^{-8} \text{ s}^{-1}$. D'après la référence ^[22].

Plusieurs méthodes de détermination du temps de corrélation rotationnelle τ_R sont utilisées.

τ_R peut être tout d'abord estimé par l'intermédiaire du coefficient de diffusion rotationnelle D^R par l'équation de Debye-Stokes, en approximant le complexe par une molécule sphérique (Equation I.14).

$$\tau_R = \frac{1}{6D^R} = \frac{4\pi a_{hyd}^3 \eta f_R}{3k_B T} \quad \text{Equation I. 14}$$

Avec

- k_B la constante de Boltzmann ;
- η la viscosité macroscopique de la solution ;
- f_R le facteur de microviscosité ;
- a_{hyd} le rayon effectif du soluté étudié correspondant à un modèle moléculaire compact.

Ce dernier est déterminé à partir de la mesure, sur des modèles moléculaires compacts, des trois longueurs d_1 , d_2 et d_3 des axes principaux de l'ellipse décrivant le mieux le complexe par la relation

$a_{hyd} = 0.5\sqrt{d_1 d_2 d_3}$. Le facteur de microviscosité peut être calculé par l'équation suivante :^[45]

$$f_R = \left[\frac{6a_w}{a_{hyd}} + \frac{1 + 3a_w / (a_{hyd} + 2a_w)}{(1 + 2a_w / a_{hyd})^3} \right]^{-1} \quad \text{Equation I. 15}$$

où a_w est le rayon de la molécule d'eau (1.4 Å).

Ainsi, les temps de corrélation rotationnelle de deux complexes de structures et de volumes proches sont proportionnels au produit $a_{hyd}^3 f_R$.

Il est également possible de déterminer τ_R par son influence sur le temps de relaxation longitudinale de l'oxygène-17 (Annexe 2). τ_R est en général déduit des courbes de variation du temps de relaxation T_1 en fonction de la température. L'inconvénient de cette méthode est qu'elle requiert la connaissance de la distance r_{GdO} et de la constante de couplage dipolaire. De plus, d'autres paramètres sont simultanément ajustés comme le temps de relaxation électronique T_{1e} .

Enfin, τ_R peut être obtenu par des mesures de temps de relaxation du ^{13}C ou du 2H du ligand en présence d'un métal diamagnétique (Y(III), La(III), Lu(III)). L'inconvénient est que ces noyaux sont peu sensibles vu leur abondance naturelle. De plus, cette technique ne mesure pas directement la rotation du métal mais celle d'un atome proche, susceptible de tourner à une vitesse différente.^[22]

En pratique, τ_R est souvent obtenu par ajustement des profils NMRD (Nuclear Magnetic Resonance Diffusion).

- **La relaxation électronique**

Les temps de relaxation électronique longitudinale et transversale jouent un rôle primordial à bas champ et de ce fait, sont importants dans l'optimisation de la relaxivité des agents de contraste utilisés aux champs cliniques actuels (0.5 à 1.5 T) (Equations I. 5 à I. 10). Cependant, il est difficile de les déterminer indépendamment des autres paramètres. Tout d'abord, il n'existe pas à ce jour de théorie valable quelles que soient les valeurs des ZFS statique et transitoire et leurs temps de corrélation respectifs. Les équations I. 8 à I. 10 du modèle SBM ne sont applicables que pour un nombre restreint de situations pour lesquelles le processus de relaxation électronique est mono exponentiel et l'énergie associée à l'éclatement en champ nul moyen (ZFS statique) est négligeable.^[16] En dehors de ces situations, la relaxation électronique devient multi exponentielle voire plus complexe et la théorie beaucoup plus difficile.

Plusieurs techniques expérimentales peuvent être utilisées pour la détermination de la relaxation électronique mais de nombreux problèmes sont souvent rencontrés. La relaxation électronique transversale est accessible par la mesure de largeur de raie RPE (Résonance Paramagnétique Electronique).^[46] Cependant, de nombreux paramètres de ZFS doivent être déterminés nécessitant des enregistrements de spectres multi champs et multifréquences sur des spectromètres RPE rarement disponibles. De plus, l'interprétation des données est limitée par la validité du modèle SBM.^[47] En pratique, la détermination des paramètres de relaxation électronique des petites molécules est souvent

estimée par l'ajustement des profils NMRD, pour des fréquences comprises entre 0.01 et 40 MHz. Cependant, de nombreux paramètres doivent être ajustés simultanément et leur détermination peut être faussée par les limites de la théorie. Au vu du manque de méthodes pour la détermination du temps de relaxation électronique, les paramètres de coordination influençant la relaxation électronique sont encore peu connus aujourd'hui. Une étude plus fine de la relaxation électronique est donc indispensable au développement de nouveaux systèmes.

II.4.4. Nouvelle génération d'agents de contraste

L'influence du temps de corrélation rotationnelle a été largement étudié. De nombreux complexes macromoléculaires à rotation lente ont été synthétisés : des complexes monomériques, polymériques, des dendrimères ou des adduits avec des macromolécules biologiques (comme l'albumine) ont conduit à de nouveaux agents de contraste dont la relaxivité est élevée aux champs moyens (0.5 - 1.5 T). Les premiers agents de cette nouvelle génération commencent à apparaître sur le marché. Ils sont classés en différentes catégories selon leur pharmacocinétique. A la différence des agents de contraste de première génération qui sont non spécifiques et diffusent rapidement vers le milieu interstitiel, les nouveaux diffusent lentement ou pas du tout avant d'être excrétés à leur tour par la filtration glomérulaire (Figure I. 15). Voici quelques exemples de ces agents de nouvelle génération.

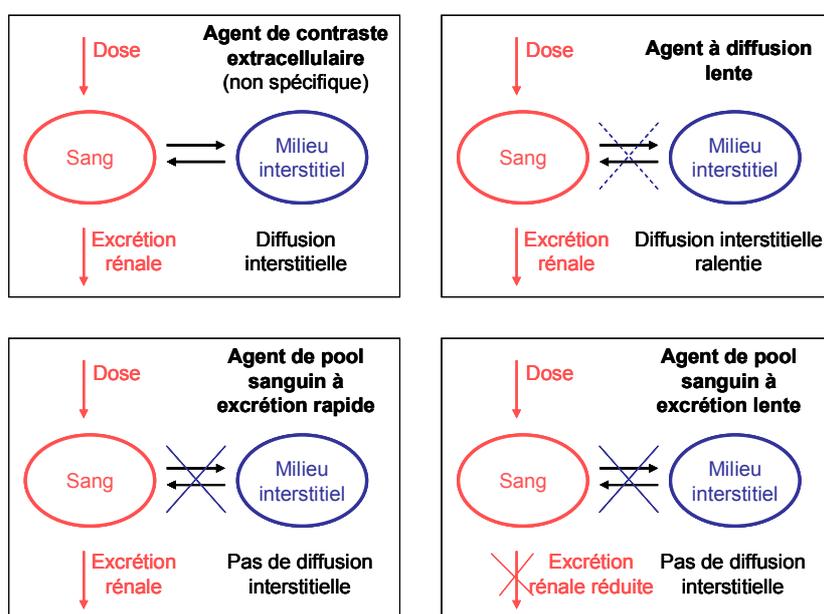
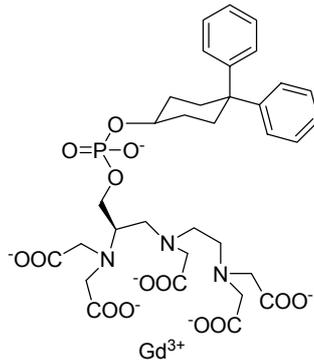


Figure I. 15 : Agents de contrastes classés en fonction de leur pharmacocinétique.

Le chélate de Gd(III) **MS-325**, développé par EPIX Pharmaceuticals, est commercialisé en Europe sous le nom de Vasovist (Figure I. 16). Des essais cliniques sont encore en cours pour une commercialisation aux Etats-Unis. Il appartient à la nouvelle classe des agents de contraste à diffusion lente utilisés pour l'angiographie. En formant des interactions hydrophobes avec l'albumine sérique, le MS-325 acquiert plusieurs propriétés intéressantes :

- son temps de rétention dans le sang est augmenté. L'accumulation de l'agent de contraste dans les vaisseaux sanguins permet une meilleure visualisation du système vasculaire : des séquences haute résolution imageant tous les détails du système vasculaire peuvent être utilisées.^[16],
- la formation d'interactions non covalentes avec une protéine engendre une nouvelle entité de grosse taille, et par conséquent, une augmentation de la relaxivité ($42 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ à 20 MHz en présence d'albumine au lieu de $5.8 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$).^[48]



MS-325

Figure I. 16 : Complexe de Gd(III) MS-325.

La Figure I. 17 représente le contraste obtenu avec le MS-325 en comparaison avec un agent de contraste extracellulaire, le Gd(DTPA). La différence de qualité des images entre les deux agents de contraste est flagrante.

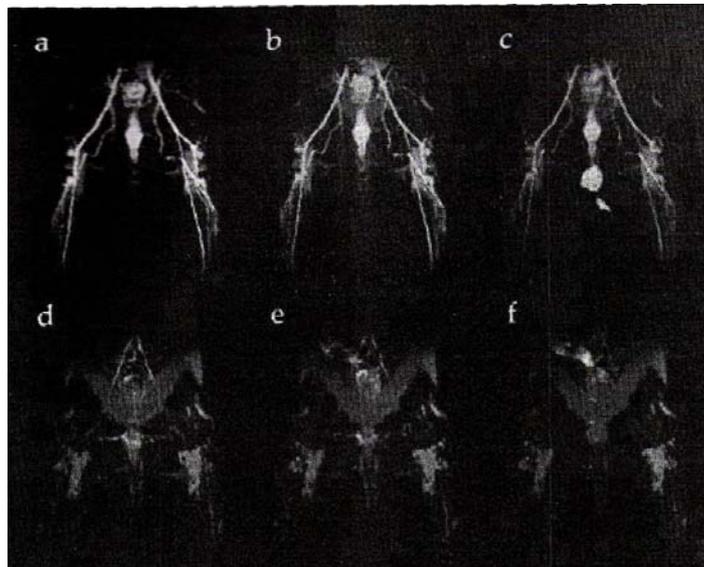


Figure I. 17 : Images par résonance magnétique d'arrières trains de lapin après injection soit de MS-325 ($0.025 \text{ mmol.kg}^{-1}$; a-c), soit de Gd(DTPA) (0.1 mmol.kg^{-1} ; d-f). Les images ont été enregistrées 5 min (a,d), 30 min (b,e) et 60 min après injection (c,f). D'après la référence ^[16].

L'albumine, de poids moléculaire élevé, a pour effet de ralentir la rotation du complexe lorsqu'il y est lié et d'en augmenter la relaxivité. Cependant, selon la constante d'affinité à la protéine, une fraction

plus ou moins importante du complexe injecté est liée. Afin de s'affranchir de cette constante et de bénéficier d'un accroissement de relaxivité maximal, il a été envisagé de créer une liaison covalente entre un complexe de petite taille et une macromolécule. Plusieurs complexes macromoléculaires ont été étudiés. En particulier, des essais cliniques sont en cours sur les chélates de Gd(III) P760 (essais précliniques) et P792 (phase II) développés par le laboratoire Guerbet. Les complexes sont représentés à la Figure I. 18.

Le P760 (PM = 5.3 kDa) est un agent de contraste à diffusion lente. Sa relaxivité dans l'eau (25°C, pH 7.4) atteint un maximum de $25 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ entre 0.35 et 1.4 T (15 et 60 MHz).^[49] Tout comme les petits complexes extracellulaires, il peut franchir la barrière hématoencéphalique lorsqu'elle est endommagée et est préconisé pour l'étude des tumeurs du cerveau. Sa diffusion lente permet une meilleure visualisation de la vascularisation des tumeurs.

Le P792 (PM = 6.5 kDa) a une relaxivité supérieure ($40 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ à 20 MHz). C'est un agent de pool sanguin à excréation rapide. Il est efficace pour la visualisation des artères coronaires, la distinction des métastases et des cancers bénins.^[50] Une étude comparative entre le P792 et le MS-325 a montré que la relaxivité *in vivo* une minute après injection est nettement supérieure dans le cas du P792 ($39 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ au lieu de $13 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ à 20 MHz).^[51]

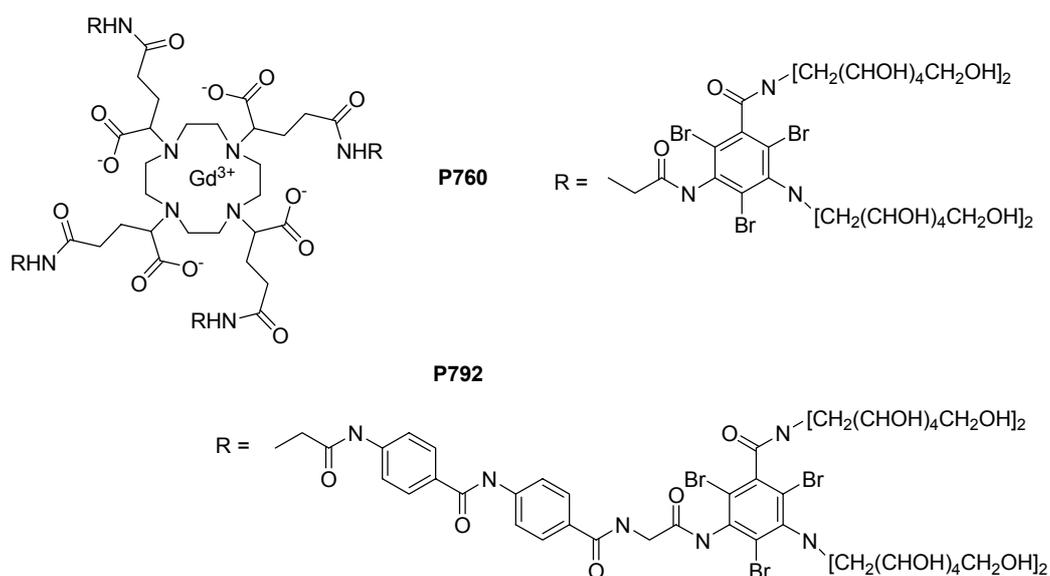
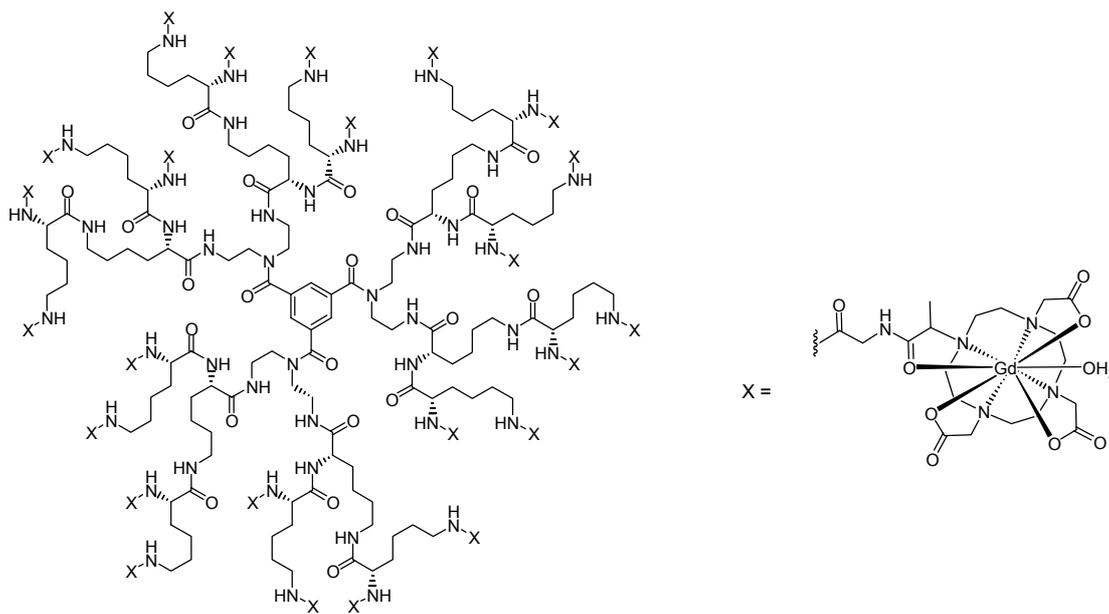


Figure I. 18 : Représentation des complexes P760 et P792 du laboratoire Guerbet.

Une autre méthode d'obtention de macromolécules est basée sur la synthèse de dendrimères. Dans cette optique, la firme Schering a développé une série de dendrimères dont le cœur est un noyau aromatique trimesoylé triamide couplé à des résidus acides aminés. Par exemple, le complexe Gadomer 17 possède 18 résidus acides aminés eux même greffés par 24 complexes de GdDOTA-monoamide (Figure I. 19). Sa relaxivité est de $16.5 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ (20 MHz, 25°C, pH 7.4) par ion Gd(III).^[52] Du fait de sa taille élevée (PM = 17 kDa), il est retenu dans la circulation et peut être utilisé

comme agent de contraste vasculaire et pour la différenciation tumorale. Il est actuellement en phase III d'essais cliniques.



Gadomer 17

Figure I. 19 : Structure du complexe dendrimérique de Gd(III) Gadomer 17.

De nombreuses études ont été réalisées en vue d'augmenter la relaxivité par l'intermédiaire du temps de corrélation rotationnelle. Toutefois, les relaxivités obtenues sont maximales pour des valeurs de champ intermédiaires (0.5 – 1.5 T) et sont nettement inférieures à la relaxivité maximale prédite par la théorie. L'ajustement simultané des autres paramètres (vitesse d'échange de l'eau en sphère interne, relaxation électronique) est donc indispensable pour augmenter encore la relaxivité. Pour cela, une meilleure compréhension des paramètres physiques et chimiques qui la déterminent est indispensable. C'est à cet aspect que nous nous sommes intéressés.

De plus, les composés macromoléculaires possèdent une relaxivité faible aux champs forts (7 – 9.4 T). Une alternative consiste en la conception de nouveaux chélates qui présenteraient simultanément un nombre élevé de molécules d'eau dans leur première sphère de coordination, une stabilité thermodynamique et cinétique suffisante et une vitesse d'échange de l'eau rapide. Ces complexes présenteraient l'avantage de posséder une relaxivité élevée quelque soit le champ magnétique.

De nouvelles stratégies plus originales sont également développées pour atteindre des relaxivités élevées. Elles consistent à encapsuler des ions Gd(III), non pas dans un chélate organique, mais dans un matériau poreux ou dans une cavité. L'utilisation des zéolites, composés aluminosilicate microporeux, a notamment été envisagée. Un agent de contraste gastro-intestinal commercial, le Gadolite, est constitué d'une zéolite NaY dans laquelle des ions Na⁺ ou H⁺ ont été remplacés par des ions Gd(III) (Figure I. 20). La relaxivité est élevée (26 mM⁻¹s⁻¹ à 60 MHz, 37°C) et est principalement

due au grand nombre de molécules d'eau enfermées dans la cavité et à leur mobilité réduite. Cependant, J. Peters et ses collaborateurs ont montré que la relaxivité était limitée par la vitesse de diffusion des molécules d'eau de l'intérieur de la cavité vers l'extérieur.^[53]

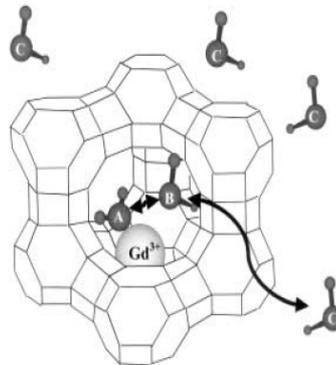


Figure I. 20 : Représentation schématique d'une zéolite NaYGD et du mécanisme de diffusion associé : (A) représente une molécule d'eau liée au Gd(III), (B) une molécule d'eau dans la cavité et (C) les molécules d'eau du solvant. D'après la référence ^[53].

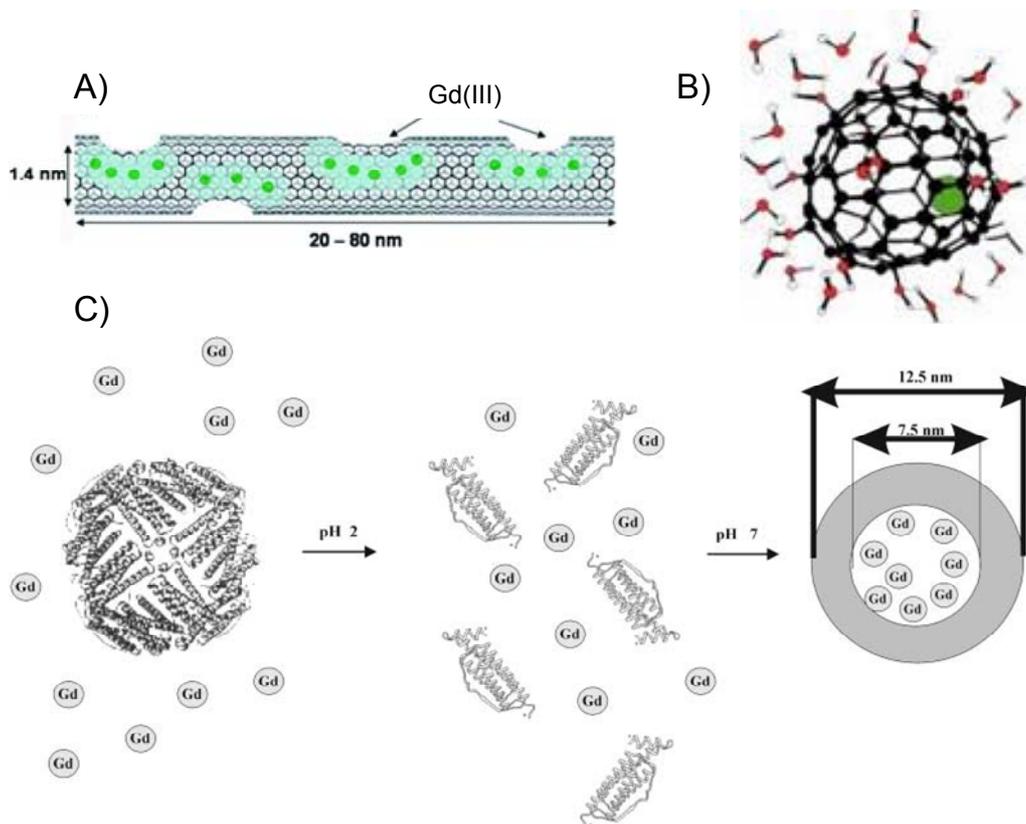


Figure I. 21 : Exemples de nouveaux matériaux pour l'IRM : A) nanotube de carbone « monocouche »,^[54] B) métallofullérène incorporant un ion Gd(III) en vert et les molécules d'eau à proximité,^[55] C) encapsulation d'ions Gd(III) par l'apoferritine.^[56]

D'autres matériaux forment des cavités et sont susceptibles de donner des agents de contraste efficaces. C'est le cas des métallofullérènes,^[55] des nanotubes de carbone^[54] et même d'une protéine, l'apoferritine dont la cavité centrale a été remplie de complexes de GdHPDO3A au laboratoire de S. Aime (Figure I. 21).^[56] De nombreuses recherches sont en cours actuellement sur l'utilisation de

nouveaux matériaux. Toutefois, la stabilité de ces systèmes est pour l'instant trop faible pour envisager leur utilisation clinique chez l'homme.

Quelque soit le type d'agent de contraste, de nombreuses recherches sont en cours en vue de rendre les agents spécifiques à un organe ou de les utiliser pour l'imagerie moléculaire. Pour cela, le greffage de biomolécules cibles ou de sondes moléculaires, sur un ligand ou à la surface d'une nanoparticule est envisagé. Les termes d'agents de contraste spécifiques et bio activables (ou intelligents) sont utilisés.^[57]

II.5. Exemples d'agents de contraste spécifiques ou bio activables

Nous venons d'évoquer le cas du ciblage de l'albumine sérique qui a permis le développement d'agents de contraste vasculaires. Du fait de sa concentration élevée dans le plasma (~ 0.6 mM) et du nombre de sites capables de former des interactions avec les petites molécules, l'albumine sérique est relativement facile à cibler. Elle est souvent utilisée comme modèle pour le développement d'agents de contraste spécifiques. D'autres macromolécules (protéines, polysaccharides, dérivés lipidiques,...) sont également intéressantes, en particulier lorsqu'elles sont surexprimées dans certaines régions du corps, par certains organes ou par les cellules cancéreuses. La méthode de ciblage la plus ancienne et la plus utilisée fait appel à l'utilisation de chélateurs bifonctionnels. Ce sont des ligands fonctionnalisés avec des polypeptides (anticorps monoclonaux ou peptides de synthèse), des oligonucléotides ou n'importe quelle biomolécule susceptible de reconnaître la surface de la molécule cible.^[58-61] En général, la technique est limitée par la faible sensibilité de l'IRM par rapport à la concentration des récepteurs spécifiques. Ainsi, leur visualisation n'est possible que si leur concentration dans les tissus est suffisamment élevée et/ou si l'efficacité de l'agent utilisé est suffisante. Cette approche a toutefois été utilisée avec succès et quelques exemples sont présentés ci-dessous.

II.5.1. Ciblage de cellules

Deux approches différentes ont été utilisées pour le ciblage de cellules : le ciblage de l'extérieur des cellules, par l'intermédiaire des récepteurs cellulaires et le ciblage de l'ADN, à l'intérieur du noyau.

Le site actif de nombreux récepteurs cellulaires est constitué par des sucres, notamment l'acide sialique. Celui-ci joue un rôle important dans la reconnaissance cellulaire et est surexprimé à la surface des cellules tumorales (10^9 au lieu de $20 \cdot 10^6$ pour les cellules saines). Pour certains types de cancer, sa prolifération est liée au développement des métastases. G. A. Lemieux et ses collaborateurs ont développé le premier agent de contraste présentant une affinité pour l'acide sialique.^[62] Un complexe dérivé du GdDOTA a été utilisé. Il forme une liaison covalente oxime avec le substrat. Récemment, des nouveaux systèmes ont été développés par J. A. Peters et ses collaborateurs en introduisant des

fonctions phénylboronate sur un dérivé du DTPA.^[63] L'acide phénylboronique se lie de manière covalente mais réversible aux diols de l'acide sialique (Figure I. 22). De plus, l'interaction est spécifique de la forme majoritaire de l'acide sialique (Neu5Ac) par rapport aux autres sucres présents dans l'organisme.

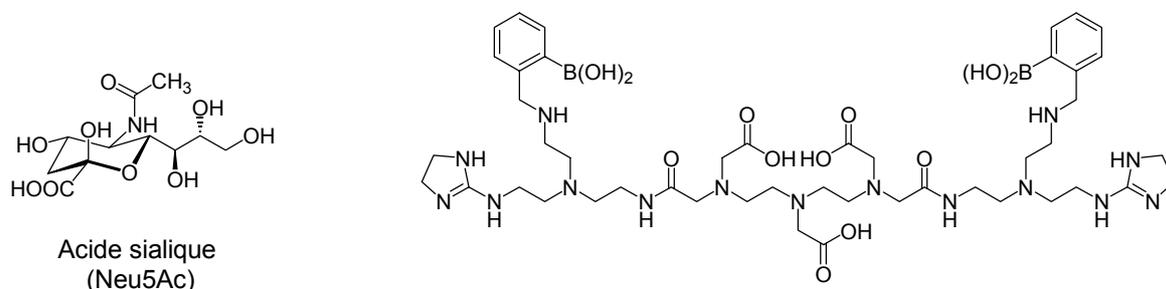


Figure I. 22 : Exemples de ligands utilisés pour la détection de l'acide sialique et sa forme majoritaire Neu5Ac. ^[63]

P. Caravan et ses collaborateurs ont mis au point un agent de contraste capable de pénétrer dans les cellules et de se fixer spécifiquement sur l'ADN.^[64] Un peptide réputé pour interagir avec l'ADN (séquence HTH), agit à la fois comme ligand et comme détecteur de l'ADN (Figure I. 23).

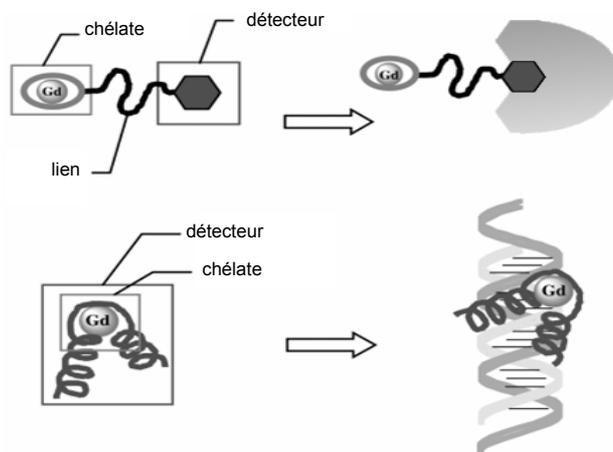


Figure I. 23 : (A) Interaction par un chélate bifonctionnel classique, (B) interaction spécifique de l'ADN avec un metallopeptide.

L'augmentation de la relaxivité de l'agent en présence d'ADN ($29.2 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ à 20 MHz et à 37°C par rapport à $16.2 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$) est largement supérieure à celle obtenue par l'approche classique. Cet effet a été corrélé à la rigidité du système.

II.5.2. Agents de contraste bio activables ou « intelligents »

Le développement de l'imagerie moléculaire a donné naissance à une nouvelle catégorie d'agents de contraste dont le signal est influencé par leur environnement. Plusieurs stimuli comme le pH, la

présence d'enzymes ou de cations métalliques^[65] ont été exploités. Quelques exemples de complexes sélectifs d'une enzyme ou dont la relaxivité est influencée par le pH du milieu sont présentés ci-dessous.

Les agents de contraste activés par une enzyme permettent de déterminer sa localisation et de mesurer l'activité enzymatique. Ce type de système a tout d'abord été développé par T. Meade et ses collaborateurs en fonctionnalisant un analogue du GdDOTA par un substituant β -galactosyl.^[66] Ce substituant est hydrolysé sélectivement par la β -galactosylase, ce qui a pour effet de libérer un site de coordination au profit d'une molécule d'eau et d'augmenter la relaxivité (Figure I. 24). La β -galactosylase n'étant pas présente naturellement dans l'organisme, elle est utilisée comme traceur pour suivre l'expression de différents gènes. Depuis, le même groupe a développé sur le même principe un agent de contraste sensible à la β -glucuronidase, enzyme produite par les cellules cancéreuses.^[67]

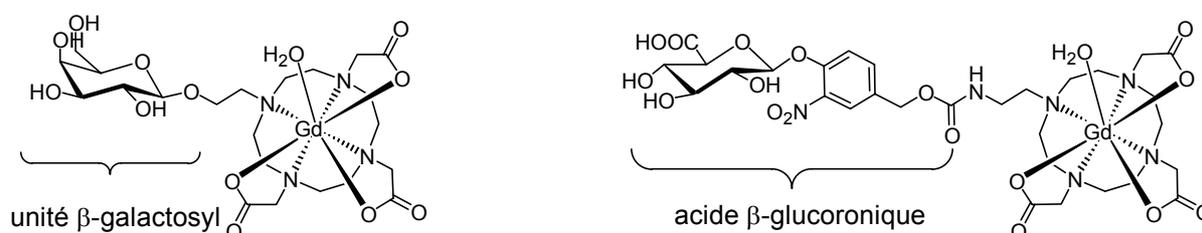


Figure I. 24 : Exemples d'activation de chélates de Gd(III) par une enzyme.

L'activation des agents de contraste par une modification du pH semble être une méthode judicieuse pour mettre en évidence les tumeurs. En effet, le pH du milieu extracellulaire des tissus cancéreux est plus acide (6.8 – 6.9) que celui du milieu extracellulaire sain (7.4). La méthode d'activation la plus répandue consiste en une modulation de la sphère de coordination du métal en fonction du pH : cette modulation peut avoir lieu soit par la formation pH-dépendante de complexes ternaires avec des anions carbonate,^[68] soit par une modification des propriétés de coordination d'un donneur du ligand. Cette stratégie a été développée par le groupe de D. Parker^[69] puis utilisée récemment par D. Sherry et ses collaborateurs.^[70, 71] Les ligands utilisés sont représentés ci-dessous (Figure I. 25).

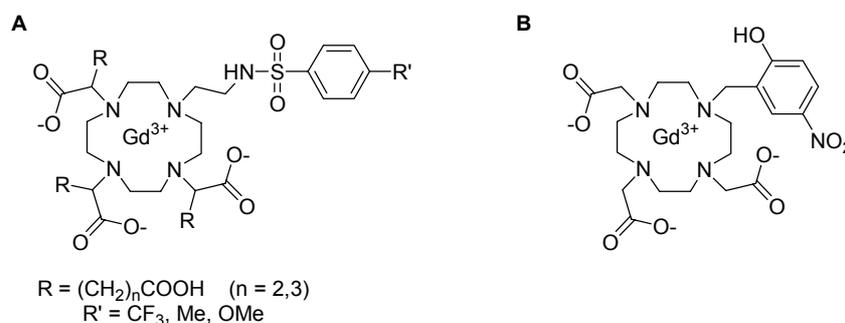


Figure I. 25 : Exemples de complexes de Gd(III) sensibles au pH développés par (A) Parker et al.^[69] (B) Sherry et al.^[71]

En milieu basique, la fonction sulfonamide du ligand est déprotonnée et liée au centre Gd(III). Quand le pH diminue, la fonction sulfonamide protonnée n'est plus liée au métal et libère deux sites de coordination au profit de molécules d'eau conduisant à une augmentation de la relaxivité de 50% de pH 7.4 à 6.8. Un fonctionnement similaire est observé pour l'unité *p*-nitrophénol.

En conclusion, de nombreuses possibilités ont été explorées *in vitro*. Cependant, plusieurs obstacles s'opposent à leur utilisation *in vivo*. Tout d'abord, les stabilités thermodynamique et cinétique des complexes doivent être suffisantes pour éviter le relargage de l'ion Gd(III) dans l'organisme car il est toxique. Ensuite, l'imagerie cellulaire nécessite des agents de contraste pouvant franchir la membrane cellulaire.

De plus, nous avons vu que l'utilisation d'agents de contraste spécifiques est principalement limitée par un seuil de détection trop élevé. Ainsi, l'accès à des agents de contraste plus efficaces est primordial pour le développement de ces nouvelles techniques.

III. Des chromophores organiques aux complexes de Ln(III) luminescents

La microscopie optique est utilisée pour détecter la présence de divers composés par l'observation de leur fluorescence. Le matériel biologique possède des propriétés de fluorescence intrinsèque dues notamment aux acides aminés aromatiques ou aux bases de l'ADN.^[72] Toutefois, il est plus aisé pour imager les tissus, cellules ou petits animaux, de faire appel à des marqueurs exogènes (c'est-à-dire étrangers au milieu étudié), encore appelés fluorochromes. Ces marqueurs peuvent être soit des chromophores organiques (fluorescéine, rhodamine,...), soit des nanoparticules luminescentes, soit des complexes de Ln(III) ($\text{Ln} = \text{Eu}, \text{Tb}, \text{Yb}, \dots$).

III.1. Définitions

III.1.1. Fluorescence et phosphorescence

Lorsqu'une substance, initialement dans son état électronique singulet fondamental (S_0), absorbe un photon, il en résulte un état électronique d'énergie supérieure appelé « état excité ». Cet état est instable et sa désexcitation vers l'état S_0 peut se faire soit par des processus vibrationnels (10^{-12} - 10^{-14} s), soit par émission d'un photon. L'émission de photon associée à la relaxation d'un état électroniquement excité est appelée luminescence. L'énergie du photon correspond à la différence d'énergie entre l'état excité et le niveau accepteur de l'état fondamental. Les différents mécanismes de retour à l'équilibre $S_1 \rightarrow S_0$ sont illustrés par le diagramme de Jablonski (Figure I. 26).

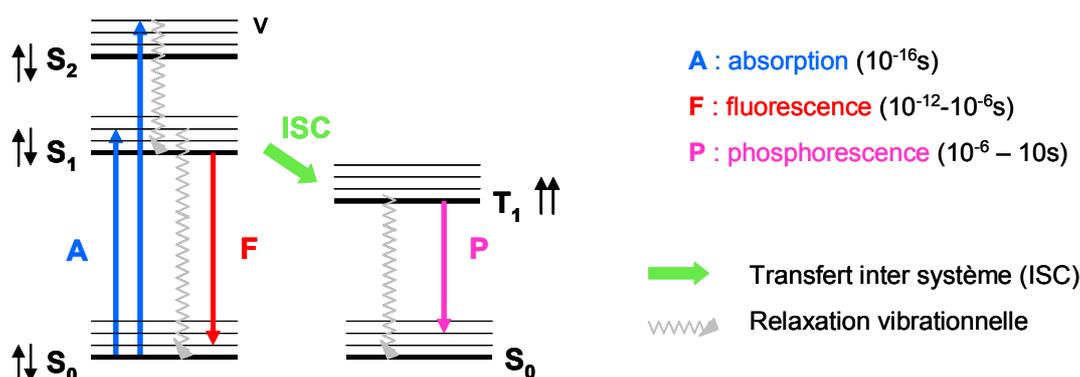


Figure I. 26 : Diagramme de Jablonski .
(S : état singulet, T : état triplet, v : niveaux vibrationnels associés)

Après absorption, l'état excité est relaxé de l'état singulet S_1 jusqu'au niveau fondamental. Les processus non radiatifs mis en jeu peuvent impliquer soit des collisions avec les molécules de solvant, soit des échanges vibrationnels avec les molécules environnantes à l'état solide. Ensuite, deux types de mécanisme de luminescence peuvent avoir lieu. Ils sont principalement différenciés par leurs temps caractéristiques :

- La fluorescence résulte de l'émission d'un photon en association avec le transfert de spin de l'état singulet S_1^0 vers un niveau vibrationnel excité de l'état fondamental (S_0^*). La durée de vie de l'état excité est comprise entre 10^{-12} et 10^{-6} s.
- La phosphorescence, implique une inversion de spin de l'un des électrons célibataires. Cette conversion, plus lente (10^{-8} s), est appelée transfert inter système. Elle est en théorie interdite mais favorisée par la présence d'atomes lourds comme les lanthanides. Ensuite, le transfert $T_1 \rightarrow S_0$ implique des états de multiplicité différente et est également « interdit ». La durée de vie d'un état phosphorescent est donc relativement longue : de 10^{-6} à 10 s.

III.1.2. Rendement quantique

L'efficacité d'un processus luminescent est donnée par son rendement quantique. Il est défini comme le rapport du nombre de photons émis au nombre de photons absorbés, pendant un temps donné. Il est fortement influencé par la position énergétique des niveaux excités et est d'autant plus fort que les désexcitations non radiatives sont minimisées.

Quel que soit le type de marquage, les molécules ayant un fort rendement quantique, un coefficient d'extinction molaire élevé et également une résistance importante au photo blanchiment (ou « photo-bleaching »), c'est-à-dire dont les propriétés d'émission ne sont pas affectées par les rayonnements lumineux, seront privilégiées.

III.2. Les chromophores organiques : une luminescence éphémère

De nombreux chromophores organiques sont disponibles commercialement. Les principales familles de fluorophores utilisées sont les coumarines, les fluorescéines, les rhodamines et les cyanines. Elles permettent de couvrir toute la largeur spectrale du proche UV au proche infrarouge (Figure I. 27).

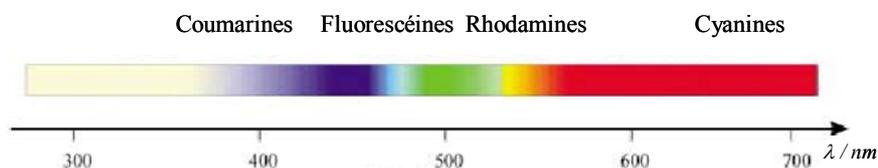
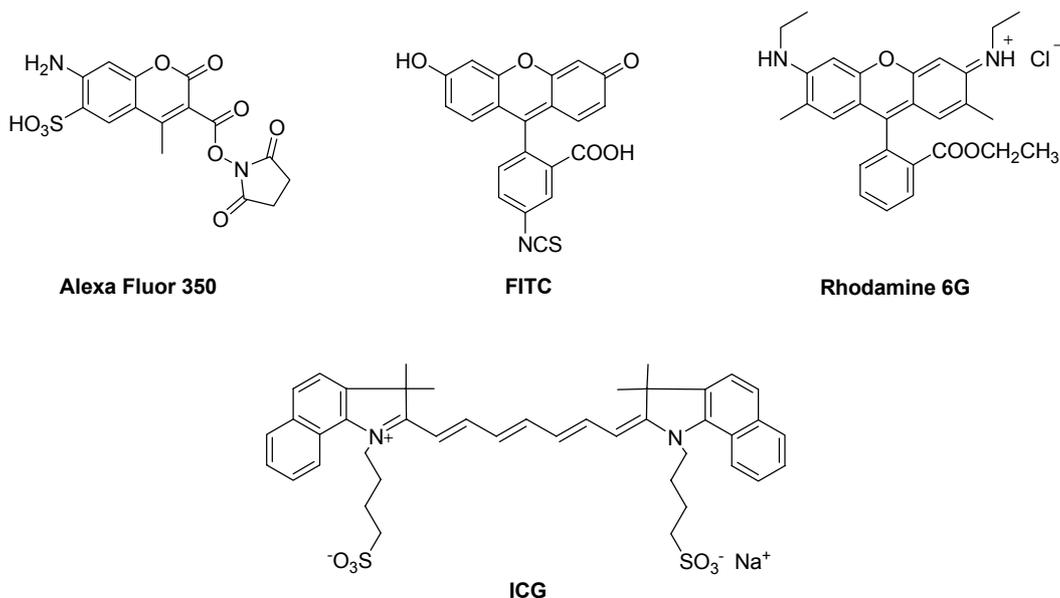


Figure I. 27 : Principales familles de fluorophores organiques et les domaines de longueurs d'onde associées.

Les structures et les propriétés de certains de ces composés sont présentées ci-dessous (Tableau I. 5).



	Famille	λ_{abs} (nm)	λ_{em} (nm)	Φ (%) ^a	τ (ns)
Alexa Fluor 350	Coumarine	346	442	-	-
FITC	Fluorescéine	470	515	92	4.1
Rhodamine 6G	Rhodamine	530	552	61	2.5
ICG	Cyanine	805	830	1.6	0.56

^a PBS 50 mM, 150 mM NaCl, pH = 7.2, 22°C.

Tableau I. 5 : Exemples de fluorophores organiques communément utilisés et leurs propriétés. ^[73]

Des séries de fluorophores présentant de bons rendements quantiques et couvrant tout le domaine visible avec des molécules empruntées à ces différentes familles sont commercialisées sous des noms génériques : Alexa Fluor[®] (442 nm < λ_{em} < 775 nm)^[73, 74] par Molecular Probes, Atto[®] dyes par Aldrich... En particulier, des rendements quantitatifs sont obtenus dans le visible avec certaines fluorescéines et rhodamines. L'émission dans l'infrarouge est moins intense car elle est plus sensible aux désexcitations non radiatives. Toutefois, les temps de vie de luminescence de ces composés sont courts, de l'ordre de la nanoseconde.

Une nouvelle famille de composés a également été développée. Elle est basée sur l'utilisation de dérivés du dipyrométhène borane, communément appelé bodipy (Figure I. 28). Des composés dont les longueurs d'ondes d'émission sont comprises entre 520 et 670 nm ont pu être obtenus par différentes substitutions des groupements pyrole.^[75] Certains de ces dérivés sont commercialisés par Molecular Probes. Cependant, les temps de vie de luminescence restent courts : de 3.9 ns dans l'eau à 5.7 ns dans le méthanol.^[73]

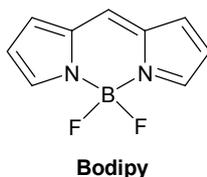


Figure I. 28 : Structure du bodipy.

Le nombre important de fluorophores commerciaux et leur utilisation facile en chimie organique rendent ces composés attractifs pour réaliser des sondes optiques. En effet, ils peuvent être aisément couplés à toutes sortes de biomolécules telles que des oligonucléotides, des peptides, des saccharides... De nombreux exemples de sondes et des applications associées peuvent être trouvés dans le *Hanbook of Fluorescence* édité par Invitrogen.^[73]

Néanmoins, l'utilisation de ces marqueurs est limitée par leurs propriétés optiques qui ne sont pas toujours adéquates aux applications voulues. Tout d'abord, leur déplacement de Stokes, c'est-à-dire la différence entre la longueur d'onde d'excitation et la longueur d'onde d'émission est faible, et rend le filtrage entre la lumière incidente diffusée (à la longueur d'onde d'excitation du système) et le signal d'émission difficile. Ensuite, leurs bandes d'émission et d'absorption sont larges ce qui rend l'utilisation simultanée de marqueurs différents difficile. Et surtout, les temps de vie de luminescence sont faibles.

III.3. Les ions Ln(III) : le concept de luminescence en temps résolu

Nous avons vu au paragraphe I.4. que les ions lanthanides possèdent non seulement des bandes d'émission et d'absorption fines (quasi-monochromatiques) mais surtout, ils sont phosphorescents et leurs temps de vie de luminescence sont significativement plus longs que ceux des chromophores organiques (de l'ordre de la ns pour Eu(III) et Tb(III)).

Ainsi, leur utilisation permet de s'affranchir de la luminescence intrinsèque du milieu biologique en utilisant la méthode de luminescence en temps résolu (Figure I. 29).

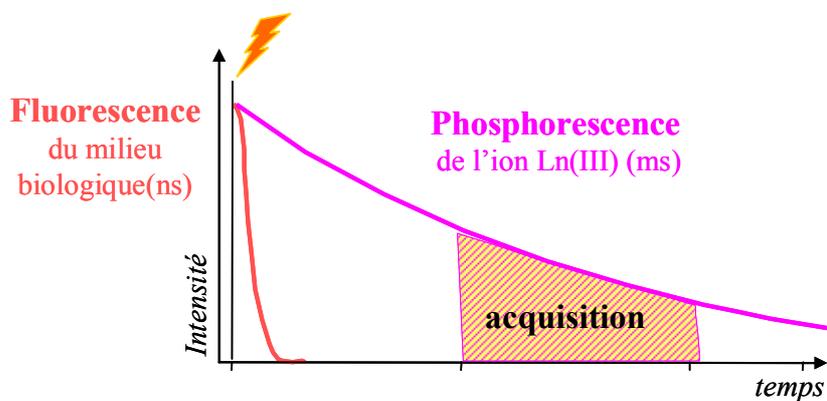


Figure I. 29 : Principe de la luminescence en temps résolu.

Le lanthanide est d'abord excité avec une lampe ou un laser pulsé. La mesure n'est effectuée qu'après un bref délai, ce qui permet de s'affranchir de l'auto fluorescence du milieu dont la durée de vie est sensiblement plus courte que celle du lanthanide. De cette manière, le rapport signal/bruit est amélioré.

Cependant, les coefficients d'extinction molaires des ions Ln(III) sont faibles et ils ne peuvent être excités que par des sources lasers dont la puissance entraînerait la destruction du matériel biologique. Ainsi, ceux-ci doivent être incorporés dans des systèmes dont la fonction absorption est distincte du lanthanide qui lui, joue le rôle d'émetteur. De plus, la séparation des fonctions absorption et émission présente l'avantage de conduire à un déplacement de Stokes important.

III.4. Les complexes des Ln(III) luminescents

Lorsqu'ils sont incorporés dans un complexe de structure adaptée, les ions Ln(III) peuvent être excités au moyen de sources lumineuses classiques. En général, un (ou plusieurs) chromophores organiques incorporés sur le ligand jouent le rôle d'antenne (Figure I. 30). D'autres mécanismes de sensibilisation peuvent être également envisagés.

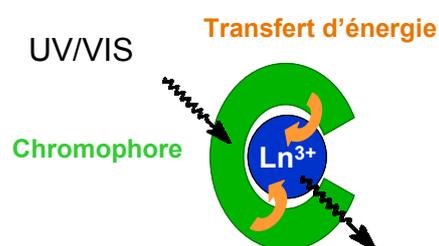


Figure I. 30 : Principe de l'effet d'antenne.

III.4.1. Les différentes voies de sensibilisation

- L'effet d'antenne

Le processus le plus souvent impliqué met en jeu l'état triplet du ligand. Il se déroule en quatre étapes illustrées à la Figure I. 31. Le chromophore organique absorbe l'énergie lumineuse et peuple ses états excités singulets $^1\pi\pi^*$. Le ligand est adapté si d'une part, un transfert inter système permet le peuplement de son état excité triplet $^3\pi\pi^*$ et, d'autre part, un transfert d'énergie efficace a lieu de cet état triplet vers les états excités du lanthanide. Les états excités du lanthanide sont ensuite relaxés par un processus radiatif, conduisant à l'émission de lumière. Ce mécanisme est communément admis pour tous les complexes de lanthanides, à l'exception de l'ion Ytterbium(III). Le transfert inter système est efficace si le niveau de l'état triplet du ligand est en adéquation avec l'état excité du métal. Dans le cas d'une différence d'énergie trop faible, un transfert en retour (« back transfert ») vers l'état triplet a lieu.

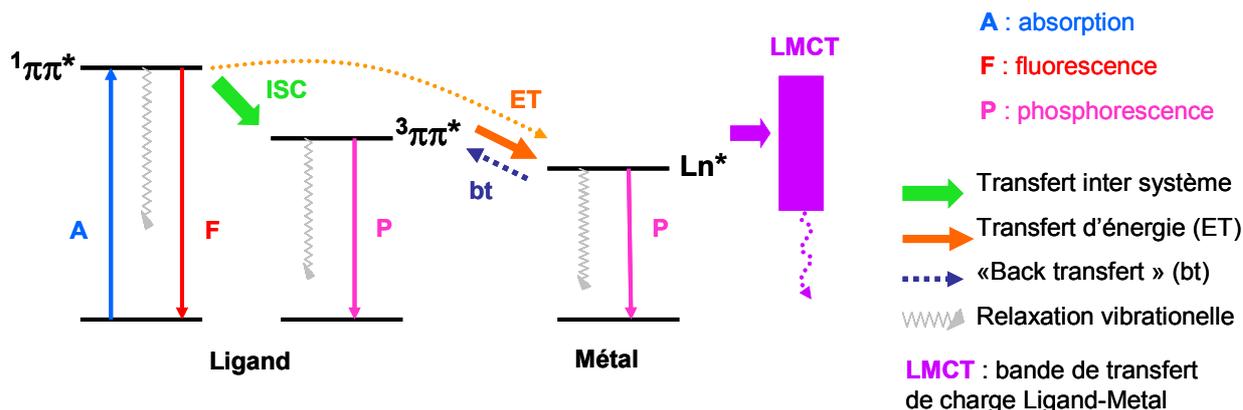


Figure I. 31 : Sensibilisation des Ln(III) par le ligand : mécanisme impliquant l'état triplet du ligand.

- **Autres voies d'activation**

Transfert par les bandes de transfert de charge

Le transfert par les bandes de transfert de charge ligand - métal (LMCT) ou métal - ligand (MLCT) permet également de sensibiliser le métal. Cette méthode est largement utilisée pour exciter les métaux de transition. Elle est cependant peu utilisée pour les lanthanides car d'une part, les bandes de transfert de charge sont plus faibles et d'autre part, leur niveau d'énergie doit être parfaitement contrôlé. En effet, un niveau suffisamment élevé permet le transfert vers l'état excité Ln^* et exacerbe la luminescence ; en revanche un niveau d'énergie trop bas l'éteint (Figure I. 31). Les bandes de transfert de charge sont ainsi impliquées dans les processus de désactivation non radiatifs électriques comme le Transfert Electronique Photo-induit (PET). Ce phénomène est lié à une oxydation ou une réduction du métal associée à l'excitation du ligand. Il est d'autant plus probable que le caractère électro-attracteur ou donneur d'une molécule est exacerbé dans son état excité. En général, une réduction du métal est observée. Elle est d'autant plus favorisée que le métal est facilement réduit : $\text{Eu(III)} > \text{Sm(III)} > \text{Yb(III)}$.^[76]

Sensibilisation par les métaux d

Le dernier mode d'excitation implique le transfert d-f depuis un métal de transition. Cette stratégie est largement utilisée mais ne sera pas détaillée ici. Par exemple, le Cr(III) est efficace pour l'activation de complexes émettant dans le proche infrarouge^[77] et permet d'augmenter la durée de vie apparente de la luminescence.^[78]

- **Cas de l'ion Ytterbium.**

Pour l'ion Yb(III) qui ne possède qu'un état excité ($^2F_{5/2}$, $E = 10\,300\text{ cm}^{-1}$), le mécanisme de transfert d'énergie depuis le chromophore est plus controversé. Deux alternatives ont été proposées. La première suggère un transfert « classique » par l'intermédiaire de l'état triplet du ligand en dépit d'une différence d'énergie importante entre les états $^3\pi\pi^*$ et Ln^* ; l'énergie en excès étant transformée en énergie vibrationnelle et en chaleur.^[79] La deuxième explication met en jeu un transfert d'électron

associé à un mécanisme d'oxydoréduction impliquant le degré d'oxydation Yb(II). Ce mécanisme est illustré à la Figure I. 32. Il n'est envisageable que si les deux étapes de transfert d'électron sont thermodynamiquement possibles.

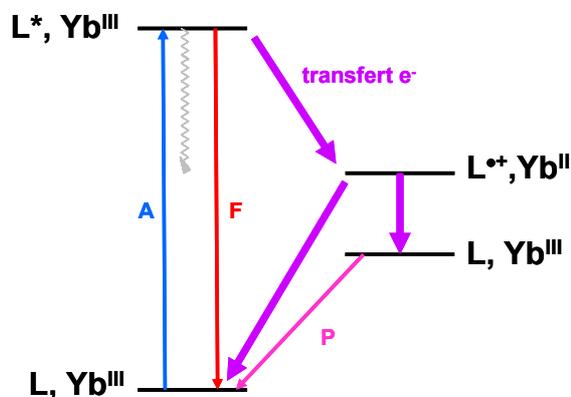


Figure I. 32 : Mécanisme par transfert d'électron pour la sensibilisation de l'Yb(III).

Ce mécanisme a été mis en évidence par Horrocks et al.^[80] en observant la luminescence de l'Yb(III) en présence de parvalbumine après excitation des unités tryptophanes de la protéine. La réduction de l'Yb(III) par le tryptophane dans son état excité singulet L* produit un radical cationique L^{•+} et l'Yb(II). Le radical cation, oxydant très puissant, va oxyder à nouveau l'ytterbium(II) pour donner le ligand L dans son état fondamental et le métal trivalent, soit dans son état fondamental Ln, soit dans son état excité Ln*. La fraction de Ln* obtenue est à l'origine de la phosphorescence observée.

- Les mécanismes de transfert

Le transfert d'énergie de l'état triplet du ligand vers les états excités du métal est un phénomène très complexe qui implique plusieurs mécanismes. Deux mécanismes limites ont été proposés et sont représentés Figure I. 33 : celui de Dexter (à gauche) et celui de Förster (à droite).

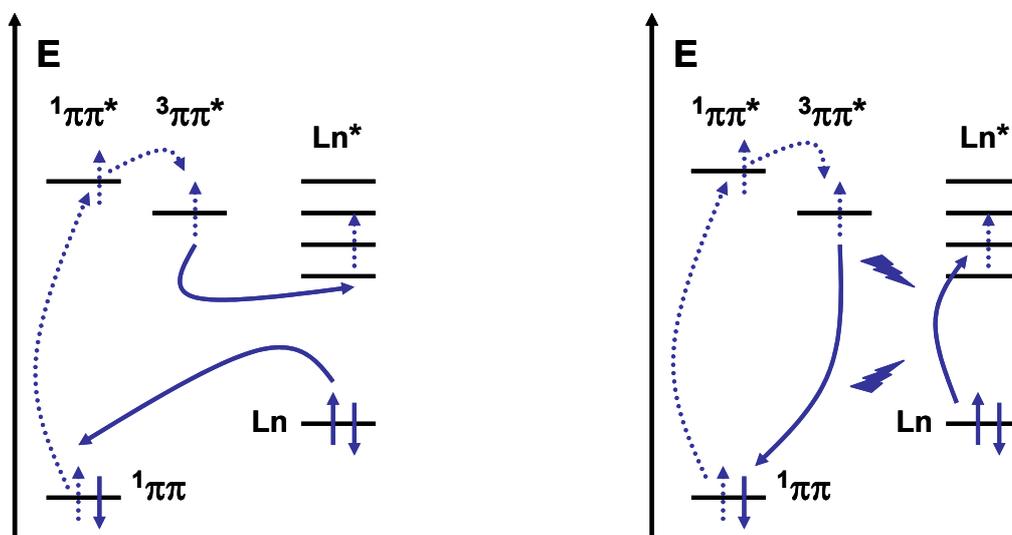


Figure I. 33 : Représentation schématique des mécanismes de Förster (à gauche) et de Dexter (à droite).

- Le mécanisme de Dexter^[81] repose sur un échange électronique entre le ligand et le métal. Ce transfert nécessite un contact entre les orbitales moléculaires du donneur et de l'accepteur. Ainsi, son efficacité dépend exponentiellement de la distance R entre le donneur et l'accepteur (e^{-R}). On peut considérer qu'il cesse d'être impliqué au delà de $R = 3 \text{ \AA}$.
- Le mécanisme de Förster^[82] s'appuie sur le couplage entre le moment dipolaire associé à l'état triplet et celui des orbitales 4f. Dans le cas d'un mécanisme purement dipolaire, l'efficacité du transfert peut être estimée à partir de l'équation simplifiée suivante :

$$\eta_{et} = \frac{1}{1 + \left[\frac{R}{R_0} \right]^6} \quad \text{Equation I. 16}$$

avec R la distance donneur-accepteur et R_0 la distance de Förster, correspondant à une efficacité de transfert moyenne de 50%. Elle dépend de plusieurs paramètres comme le rendement quantique du donneur (en absence d'accepteur), l'indice de réfraction du milieu étudié, l'intégral de recouvrement entre le spectre d'émission du donneur et le spectre d'absorption de l'accepteur.

III.4.2. Conception de chélates de Ln(III) luminescents

A la lumière de ces mécanismes, plusieurs points doivent attirer notre attention lors de la conception d'une sonde luminescente :

- Les désexcitations non radiatives vibrationnelles liées aux oscillateurs O-H du solvant ou aux vibrations des liaisons du ligand devront être minimisées. Pour cela, la présence d'oscillateurs moléculaires de type O-H ou N-H dans la première sphère de coordination du lanthanide est à éviter. En effet, les modes vibrationnels peuvent interagir avec les niveaux électroniques excités de l'ion, conduisant à une atténuation (« quenching ») de la luminescence. Ainsi, lorsque des molécules de solvants protiques (H_2O , et dans une moindre mesure MeOH) sont coordonnées au centre métallique, la durée de vie de luminescence et le rendement quantique se trouvent fortement affectés. L'efficacité du processus est fortement influencée par la nature du vibreur. Ainsi, la désactivation par les vibreurs O-H est supérieure à celle provoquée par les vibreurs O-D. Cette différence peut être mise à profit pour déterminer le nombre de molécules d'eau coordonnées au métal. La méthode est détaillée en Annexe 1. Afin d'éviter ces vibrations, les complexes dont la sphère de coordination est saturée sont privilégiés. De plus, pour un vibreur donné, la désactivation est d'autant plus faible que la différence d'énergie ΔE entre l'état émissif du lanthanide et son état fondamental est grande. Par exemple,

l'extinction de luminescence est plus importante pour l'ion Eu(III) ($\Delta E(^5D_0-^7F_6) = 12\,300\text{ cm}^{-1}$) que pour l'ion Tb(III) ($\Delta E(^5D_4-^7F_6) = 14\,200\text{ cm}^{-1}$) (Figure I. 34).

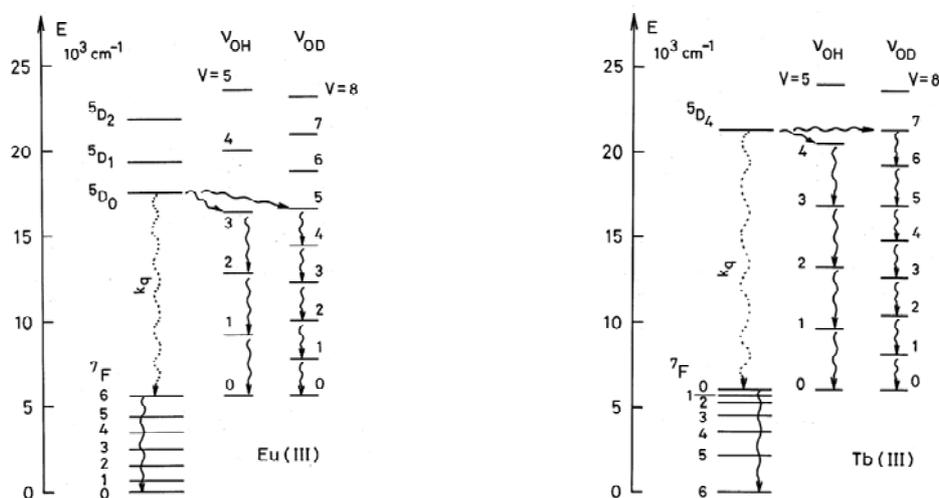


Figure I. 34 : Désexcitations vibrationnelles des complexes d'Eu(III) et de Tb(III) dans l'eau légère et dans D₂O.

- De même, nous avons vu que des désexcitations non radiatives par Transfert Electronique Photo induit (PET) sont d'autant plus probables que le lanthanide utilisé est oxydant et que le ligand est réducteur. Ce processus, principalement observé dans le cas de l'Eu(III), est favorisé par la présence de groupements donneurs d'électrons (comme les amines) sur le ligand.^[83, 84]

- Aussi, le niveau énergétique de l'état triplet du ligand doit être correctement positionné par rapport aux états excités de l'ion étudié. Une étude détaillée a été réalisée par M. Latva et ses collaborateurs sur une série de complexes de Tb(III) et d'Eu(III). Ils ont démontré que le transfert était irréversible à partir d'une différence d'énergie entre les deux états supérieure à 1850 cm^{-1} .^[85] Pour les complexes d'Eu(III), la relation entre la position énergétique de l'état triplet du ligand et l'efficacité du transfert semble moins bien comprise. Néanmoins, cette même étude a révélé un transfert efficace pour un état triplet du ligand positionné autour de $22\,000\text{ cm}^{-1}$. Dans le cas d'une différence énergétique plus faible, un processus de transfert en retour de type vibrationnel a lieu. Son temps de vie dépend de la température, selon une équation de type Arrhenius.

Ainsi, le rendement quantique d'un complexe est fortement influencé par les propriétés de son ligand. Celui-ci doit être bien adapté pour limiter les processus de désactivation non radiatifs et ces niveaux d'énergie doivent être en bonne adéquation avec ceux du métal utilisé.

III.5. Exemples d'application des complexes de Ln(III) pour le diagnostic biomédical

Il existe trois applications principales des complexes luminescents dans le domaine biomédical : les sondes chimiques luminescentes, les tests immunologiques et les essais d'hybridation, et l'imagerie médicale.

III.5.1. Sondes luminescentes

En ce qui concerne les sondes, la détection d'ions ou d'entités moléculaires (analyte) s'effectue par la présence ou l'absence d'un signal lumineux (système « on-off »). La modulation de la luminescence peut avoir lieu par trois mécanismes principaux (Figure I. 35).^[13]

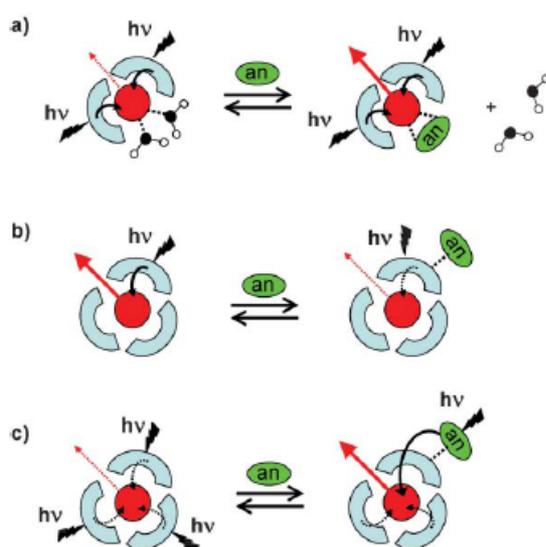


Figure I. 35 : Modulation de la luminescence d'un complexe de lanthanide par l'interaction avec un analyte an. D'après la référence ^[13].

Premièrement, l'analyte peut interagir directement dans la sphère de coordination du lanthanide. Ce mécanisme est mis à profit pour la détection d'anions (Figure I. 35 a). Nous savons que la luminescence du métal est « quenchée » par la présence de molécules d'eau liées au centre métallique. L'interaction avec des anions déplace ces molécules d'eau et restaure la luminescence. Un travail important dans ce domaine a été réalisé par D. Parker et ses collaborateurs.^[76] Par exemple, le complexe cationique d'Eu(III) incorporant un chromophore pyridinوثioxanthone (Figure I. 36) s'avère être un senseur sélectif du citrate.^[86] En effet, en présence de citrate, une augmentation significative de l'intensité de la bande d'émission de l'Eu(III) à 615 nm est observée. De plus, cette augmentation a lieu quel que soit le pH ($4 < \text{pH} < 8.2$) et n'est pas influencée par la présence d'autres anions endogènes (phosphate, lactate, carbonate) dans des concentrations identiques à celles du milieu extracellulaire.

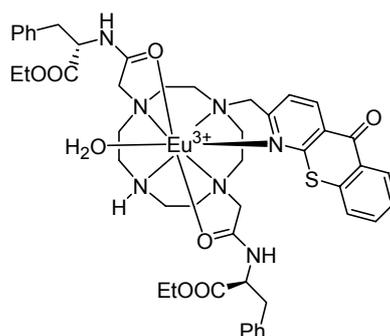


Figure I. 36 : Senseur sélectif du citrate.

Deuxièmement, la luminescence du complexe peut être influencée par les propriétés photophysiques du ligand en modifiant par exemple le niveau énergétique de ses états excités (Figure I. 35 b et c). Les processus non radiatifs font alors intervenir les bandes de transfert de charge ou un transfert d'électron photo induit d'un récepteur vers le lanthanide. Ce processus est souvent utilisé pour la détection de cations métalliques et l'élaboration de systèmes sensibles au pH.^[87] la complexation d'un cation par le récepteur supprime le transfert d'électron et la luminescence devient le principal processus de relaxation. De tels systèmes ont été développés pour la détection des principaux cations endogènes : Cu(II), Zn(II), Mn(II), Ca(II), Mg(II), K(I) et Na(I).^[88-91]

Enfin, des systèmes analogues à ceux utilisés pour le développement d'agents de contraste IRM sensibles au pH ont également été utilisés (§ II.5). Pour ces systèmes, le nombre d'atomes donneurs, et par conséquent le nombre de molécules d'eau dans la sphère de coordination du métal, varient avec le pH et engendrent une modulation des désexcitations vibrationnelles.^[92]

III.5.2. Tests immunologiques

Les tests immunologiques se basent sur une réaction biochimique entre un antigène (l'analyte) et un anticorps spécifique marqué avec une sonde fluorescente. Plusieurs technologies sont utilisées et commercialisées avec des complexes de lanthanide : on distingue les tests hétérogènes des tests homogènes (Figure I. 37).

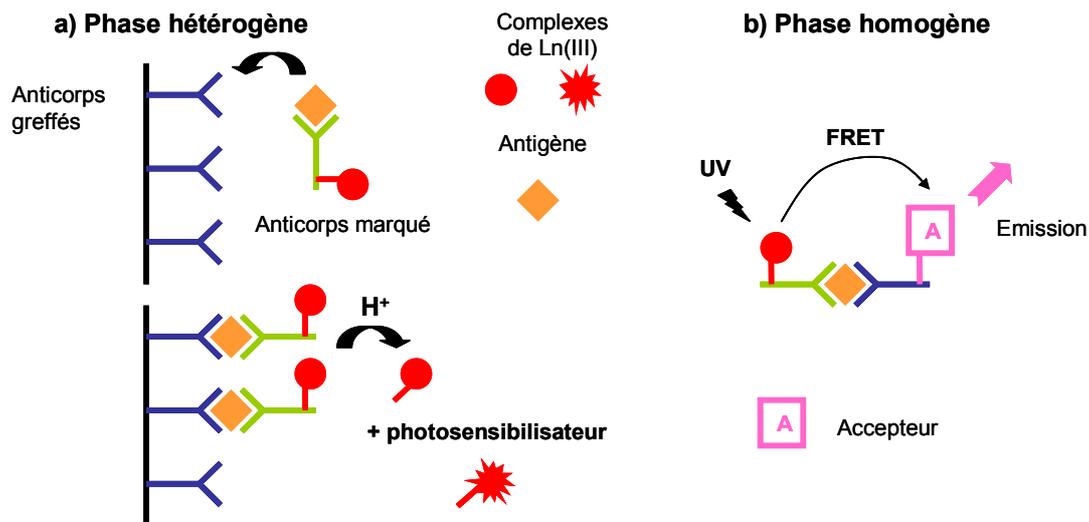


Figure I. 37 : Principe des tests immunologiques.

Le système hétérogène Delfia (Dissociation Enhanced Lanthanide FluoroImmunoAssays) a été développé par le groupe de I. Hemmilä dans les années 1980.^[93] Un complexe de Ln(III) luminescent est greffé sur un anticorps spécifique de l'analyte à étudier. L'entité analyte-anticorps marqué est mise en présence d'un second anticorps fixé sur un support solide. Après lavage de l'anticorps marqué en excès, les ions Ln(III) sont relargués en milieu acide. Ces ions sont ensuite complexés par un photosensibilisateur (β -dicétone) et la luminescence de ce nouveau complexe est mesurée. Une adaptation de cette méthode consiste à greffer directement un complexe de lanthanide luminescent sur le premier anticorps, c'est la technologie CyberFluor.^[94]

Les tests homogènes impliquent, pour la plupart, la réaction d'un antigène avec deux anticorps différents : le premier est marqué avec le chélate de Ln(III), le second avec un accepteur organique. Après excitation, la lumière émise par le lanthanide est transférée sur l'accepteur qui émet à une longueur d'onde caractéristique. Le transfert TR-FRET (Time-Resolved Fluorescence Resonance Energy Transfer) n'a lieu que si le donneur et l'accepteur sont suffisamment proches, c'est à dire s'ils sont attachés au même antigène. Sur ce principe, G. Mathis et ses collaborateurs ont réalisé de nombreux tests immunologiques et des tests d'hybridation de l'ADN. Des complexes d'Eu(III) avec les cryptants de Lehn sont utilisés avec des accepteurs cyanine et d'autres systèmes.^[95, 96] Ils sont aujourd'hui commercialisés par la société Cis Bio international. La société Amersham Biosciences a développé un système analogue avec des ligands terpyridine.^[97] Deux exemples sont représentés à la Figure I. 38.

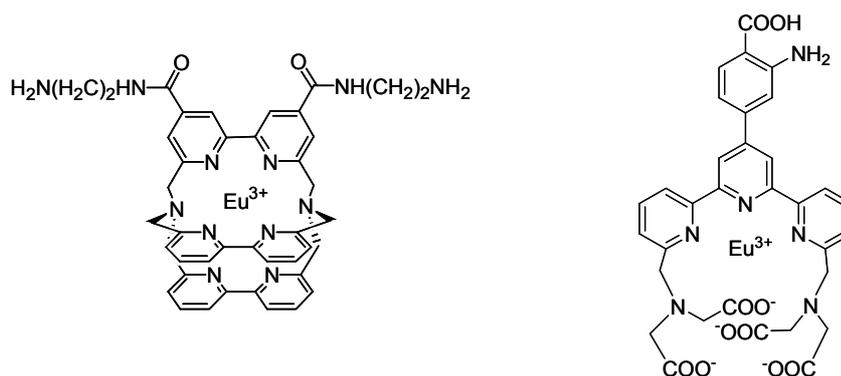


Figure I. 38 : Premiers complexes d'Eu(III) commerciaux : à gauche, cryptate d'Eu(III) avec le ligand TSP ;^[95] à droite, complexe avec le ligand TMT.^[97]

III.5.3. Imagerie

Actuellement la technique d'imagerie par luminescence est applicable uniquement *in vitro* ou pour les expériences sur les petits animaux. Deux types de marqueurs luminescents sont utilisés pour l'imagerie par fluorescence en temps résolu : les complexes de lanthanides émettant dans le visible (Eu(III) et Tb(III) principalement) et ceux émettant dans l'infrarouge, principalement l'Yb(III). L'émission dans l'infrarouge présente un avantage considérable puisqu'elle permet de s'affranchir de l'absorption de l'eau et des tissus biologiques et, à terme, d'explorer des tissus plus en profondeur. Dans tous les cas, les efforts de recherche sont dirigés vers l'élaboration de marqueurs spécifiques. Des stratégies analogues à celles développées pour les agents de contraste pour l'IRM sont utilisées. Les efforts se sont principalement concentrés sur la détection des cellules cancéreuses.^[13] Les ligands utilisés sont semblables à ceux utilisés pour la complexation du Gd(III). La plupart sont dérivés des ligands polyaminocarboxylate de type DOTA ou DTPA pour lesquels un (ou plusieurs) bras acétate (ou phosphonate) a été fonctionnalisé par un chromophore.^[13, 94] Par exemple, D. J. Bornhop et al. ont mis au point un ligand dérivé du cyclène (Figure I. 39) dont la luminescence du complexe de Tb(III) a été observée *in vitro* chez le hamster.^[98]

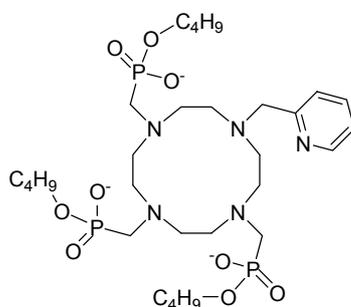


Figure I. 39 : Exemple de ligand construit sur une plateforme cyclen.

D. Parker et ses collaborateurs ont également réalisé des images de cellules (fixées et vivantes) avec le complexe d'Eu(III) dérivé du pyridinothioxanthone dont la structure est représentée Figure I. 36. Pour les trois lignées cellulaires NIH 3T3, Hela et HDF, seule la luminescence du noyau est observée. Ainsi, le complexe est sélectif du noyau de la cellule et son utilisation ouvre de nouvelles voies pour la visualisation des mécanismes au sein du noyau. D'autres exemples de complexes luminescents seront présentés au chapitre IV.

IV. Sondes « bimodales »

Il est important de souligner l'intérêt croissant pour les « sondes bimodales » pouvant être utilisées à la fois pour l'imagerie optique et pour l'IRM. Avec de telles sondes, il devient possible de corrélérer les observations *in vitro* par microscopie optique à ce qui est observé chez le patient par IRM et de bénéficier simultanément de la forte sensibilité de la sonde luminescente et de la résolution anatomique de l'IRM.

Plusieurs sondes bimodales ont été synthétisées. En général, un chromophore organique est relié à un agent de contraste.^[92, 99] Par exemple, K. Logothetis et ses collaborateurs ont conjugué un complexe de Gd(III) dérivé du DOTA à la fluorescéine (Figure I. 40).^[100]

Une autre approche consiste à développer des ligands pouvant être utilisés pour l'Imagerie par Résonance Magnétique ou pour l'imagerie optique en fonction du métal utilisé. C'est à cet aspect que nous nous sommes intéressés. Cette approche est très récente et permet de s'affranchir de la courte durée de vie des chromophores organiques. Les premiers exemples ont été étudiés par D. Parker et ses collaborateurs. Nous avons déjà cité l'exemple des complexes de Gd(III) et de Tb(III) dont les propriétés sont sensibles au pH.^[92] Plus récemment, C. Picard et ses collaborateurs ont obtenu une sonde bimodale à partir d'un ligand macrocyclique contenant une unité bipyridine (Figure I. 40).^[101] Le complexe formé avec l'ion Gd(III) possède une relaxivité du même ordre de grandeur que celle des agents de contraste commerciaux ($r_1 = 3.4 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$, 20 MHz, 37°C) ; les complexes avec les ions Tb(III) et Eu(III) possèdent une luminescence intense : leurs rendements quantiques respectifs sont 10% et 20%.

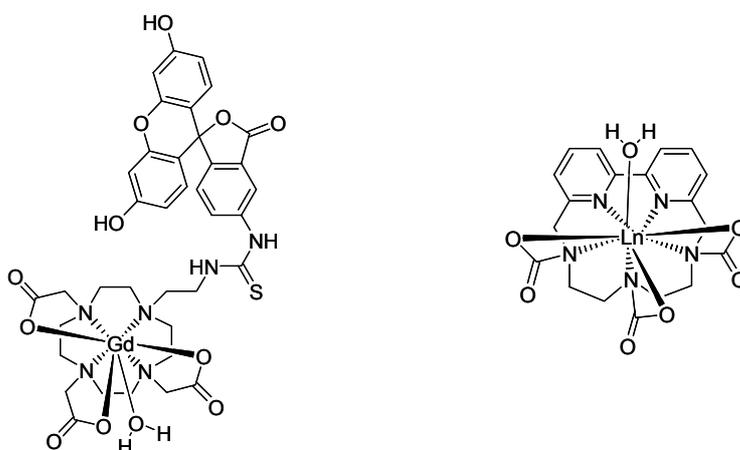


Figure I. 40 : Exemples de « sonde bimodale » pour l'IRM et la luminescence : à gauche, exemple développé par K. Logothetis et al ;^[100] à droite : complexes étudiés par C. Picard et ses collaborateurs (Ln = Gd, Tb).

Ces deux techniques d'imagerie requièrent l'élaboration de complexes thermodynamiquement et cinétiquement stable et à terme, sélectifs de la molécule cible à étudier. Ainsi, nous pouvons envisager d'utiliser un même ligand pour les deux applications. Une comparaison directe des résultats de l'IRM effectuée chez le patient aux observations *in vivo* par microscopie optique permettrait en effet d'améliorer sensiblement la qualité du diagnostic.

Notons toutefois, que cet objectif est un véritable challenge. En effet, ce sont les propriétés de la sphère de coordination qui déterminent l'efficacité des complexes et nous avons vu que les exigences sont différentes selon que le complexe soit utilisé pour l'IRM ou la luminescence. Notamment, une sphère de coordination saturée conduit à des meilleurs rendements quantiques, alors que la présence de molécules d'eau en première sphère est la clef d'une relaxivité élevée !

V. Contexte et objectifs du travail

Ce travail de thèse s'inscrit dans le cadre du développement de nouveaux chélates de lanthanides pour leur utilisation comme sondes magnétiques et optiques pour l'imagerie biomédicale. Les progrès récents en matière de diagnostic et d'instrumentation ont ouvert de nouvelles perspectives pour l'Imagerie par Résonance Magnétique : des scanners IRM à hauts champs (jusqu'à 9.4 T) ont été mis en place pour l'imagerie des petits animaux ; le développement des biotechnologies amène les chercheurs à développer l'imagerie moléculaire en utilisant des agents de contraste spécifiques de la cible à étudier. Toutefois, la qualité des images IRM est aujourd'hui limitée par sa faible sensibilité. Le développement d'agents de contraste à haute relaxivité est donc indispensable aux nouvelles applications. Nous avons vu en introduction que de nombreux paramètres rentrent en jeu dans la description du mécanisme de relaxivité d'un agent de contraste. Dans le cas des complexes de Gd(III), le nombre de molécules d'eau dans la sphère de coordination du métal, leur vitesse d'échange, le temps de corrélation rotationnelle du complexe et le temps de relaxation électronique longitudinale sont autant de paramètres à optimiser pour obtenir une relaxivité élevée. De plus, leur influence sur la relaxivité varie en fonction du champ magnétique. Ainsi, des propriétés différentes sont requises pour leur utilisation aux champs forts (7 à 9.4 T) ou aux champs classiques de l'IRM actuelle (0.5 à 1.5 T).

Aux champs moyens, la vitesse d'échange des molécules d'eau en première sphère ainsi que le temps de corrélation rotationnelle du complexe sont particulièrement importants. De nombreuses études ont été réalisées dans ce sens et leur influence sur la relaxivité est relativement bien comprise.^[22] Ce n'est pas le cas de la relaxation électronique. D'une part, il n'existe pas de méthode simple permettant sa détermination expérimentale.^[46] D'autre part, la théorie de Solomon-Bloembergen-Morgan utilisée jusqu'ici pour la description de la relaxation électronique ne permet pas de rendre compte des phénomènes observés aux champs faibles à moyens.^[102] Cependant, l'influence de la relaxation électronique n'est pas négligeable. En particulier, dans le cas des complexes macromoléculaires : un temps de relaxation trop court peut conduire à une chute de relaxivité jusqu'à 30% aux champs actuels de l'imagerie clinique !^[47] Aux champs élevés (7 à 9.4 T), la relaxation électronique longitudinale est lente quelque soit l'architecture du complexe et affecte peu la relaxivité. Seuls le temps de corrélation rotationnelle du complexe et la vitesse d'échange des molécules d'eau en première sphère de coordination peuvent être optimisés. Néanmoins, leur influence sur la relaxivité est moins importante qu'à bas champ. Des relaxivités élevées peuvent être toutefois atteintes par l'augmentation du nombre de molécules d'eau en interaction avec le métal.

Une série de complexes de gadolinium(III) avec des ligands dérivés du picolinate ont été précédemment étudiés au laboratoire. Deux de ces composés présentent des propriétés

particulièrement intéressantes. Ils sont représentés ci-dessous (Figure I. 41). Le complexe avec le ligand tpatcn^{3-} possède l'une des relaxations électroniques en champ nul les plus lentes décrites dans la littérature.^[47] Cependant, sa relaxivité est limitée par l'absence de molécules d'eau dans sa sphère de coordination. Le complexe de Gd(III) avec le ligand tpaa^{3-} possède deux molécules d'eau en sphère interne et de ce fait, une relaxivité élevée.^[103] Toutefois, une étude complète du système est rendue impossible par sa faible solubilité à pH physiologique.

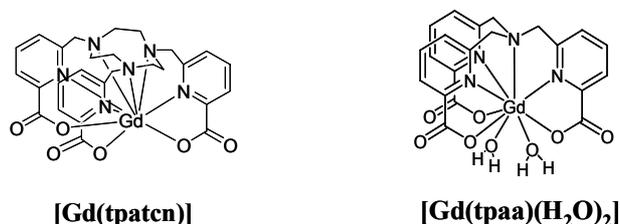


Figure I. 41 : Complexes de Gd(III) avec les ligands picolinate tpatcn^{3-} et tpaa^{3-} .

Notre travail s'oriente selon les deux axes suivants : d'une part, améliorer la relaxivité du complexe $[\text{Gd}(\text{tpatcn})]$ par l'incorporation d'une molécule d'eau dans sa sphère de coordination et, d'autre part, augmenter la solubilité du complexe $[\text{Gd}(\text{tpaa})]$, afin de tirer parti de la présence des deux molécules d'eau dans sa sphère de coordination.

Pour cela une série d'analogues octadentes du ligand H_3tpatcn sera synthétisée. Ils sont obtenus en remplaçant un picolinate bidente par un groupement monodente (acétate, phosphonate et propionate). Les structures des complexes sont représentées Figure I. 42. L'étude de la série devrait permettre de conclure quant à l'influence de l'architecture du complexe sur sa stabilité et ses paramètres déterminant la relaxivité : vitesse d'échange et bien sûr, la relaxation électronique.

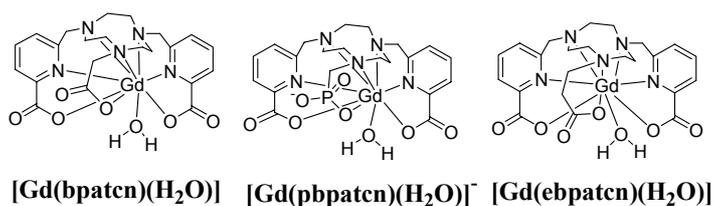


Figure I. 42 : Complexes mono-aqua dérivés du $[\text{Gd}(\text{tpatcn})]$.

Concernant le complexe $[\text{Gd}(\text{tpaa})]$, plusieurs stratégies peuvent être utilisées pour augmenter sa solubilité. En général, un complexe est d'autant plus soluble en milieu aqueux que le nombre de groupements hydrophobes est faible par rapport à la quantité de substituants hydrophiles. Aussi, la solubilité est meilleure pour les complexes chargés. Ainsi, nous avons tout d'abord envisagé de substituer un groupement picolinate hydrophobe du ligand H_3tpaa par un groupement acétate hydrophile. De ce fait, la coordination du ligand est réduite et le complexe formé possède trois molécules d'eau dans sa sphère de coordination. L'étude d'un analogue bis-aqua anionique possédant un groupement aspartate a également été envisagée. Les complexes sont représentés à la Figure I. 43.

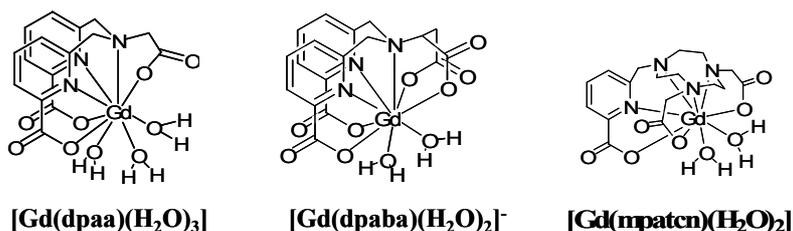


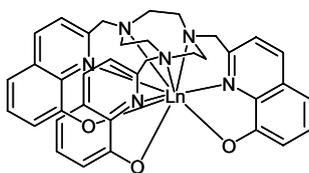
Figure I. 43 : Complexes bis-aqua dérivés du $[Gd(tpaa)(H_2O)_2]$ (à gauche) et du $[Gd(tpatcn)]$ (à droite).

Ils possèdent deux ou trois molécules d'eau dans leur première sphère de coordination et, de ce fait, sont susceptibles d'avoir une relaxivité dans l'eau élevée quel que soit le champ. Cependant, deux facteurs limitent l'utilisation de tels systèmes en milieu physiologique et sont à prendre en compte : premièrement, un nombre d'hydratation élevé se traduit souvent par une baisse de la stabilité du complexe ; deuxièmement, la compétition avec des ligands endogènes comme les anions phosphate, carbonate ou citrate ou les groupements carboxylate des chaînes latérales des protéines, peut conduire à une diminution de la relaxivité. Des études récentes ont montré que l'affinité des ligands endogènes est fortement influencée par l'architecture du complexe.^[104] Ainsi, afin de comparer les propriétés des tripodes à pivot « amine centrale » à celles d'un complexe construit sur une base 1,4,7-triazacyclononane, un analogue bis-aqua du complexe $[Gd(tpatcn)]$ sera également synthétisé : le complexe $[Gd(mpatcn)(H_2O)_2]$ dont la structure est également représentée Figure I. 43. Une étude comparative sera réalisée sur les trois complexes $[Gd(dpaa)(H_2O)_3]$, $[Gd(dpaba)(H_2O)_2]^-$ et $[Gd(mpatcn)(H_2O)_2]$ afin d'étudier l'influence de leur architecture sur leur stabilité thermodynamique, leurs propriétés de relaxivité et leur affinité pour les ligands endogènes.

Un intérêt non négligeable de tous ces systèmes réside dans leur « bimodalité ». En effet, tous les ligands présentés ici incorporent des chromophores organiques. Le groupement picolinate compte parmi les meilleurs chromophores qui sensibilisent l'Eu(III) et le Tb(III).^[105] Ainsi, les complexes correspondants seront évalués du point de vue de leur luminescence dans le visible. En effet, l'influence de la géométrie dans laquelle le chromophore est arrangé autour du lanthanide sur son efficacité de luminescence a très peu été étudiée. Une étude systématique sur l'ensemble des ligands développés ici devrait permettre de dégager les facteurs importants.

Nous avons vu que les systèmes émettant dans l'infrarouge sont particulièrement intéressants pour leurs applications dans le domaine biomédical. Ainsi, nous avons également envisagé l'étude d'un système tripodal luminescent dans l'infrarouge. Le picolinate n'étant pas adapté à la sensibilisation des ions Yb(III), Nd(III) et Er(III) émettant dans l'infrarouge, nous avons décidé de les remplacer par des chromophores hydroxyquinoléine dont les propriétés de sensibilisation se sont avérées très

efficaces.^[106] Pour cela, des complexes avec un ligand analogue du ligand H₃tptacn possédant des groupements hydroxyquinoléine seront étudiés (Figure I. 44).



[Ln(thqtcn)]

Figure I. 44 : Structure du complexe avec le ligand thqtcn³⁻ (Ln = Nd, Yb, Er).

Ce manuscrit est organisé de la manière suivante : après avoir présenté la synthèse des ligands (chapitre II), nous présenterons l'étude des complexes de Gd(III) du point de vue de leur structure, leur stabilité et leurs propriétés de relaxivité (chapitre III). Une nouvelle méthode de détermination directe du temps de relaxation électronique sera présentée. Enfin, le chapitre IV sera consacré aux propriétés de luminescence dans le visible des complexes avec les ligands dérivés du picolinate (Eu(III), Tb(III)) et à l'étude de la luminescence des complexes [Ln(thqtcn)] dans le proche infrarouge (Ln =Yb, Nd, Er).

Bibliographie

- [1] R. G. Pearson, *Chemical Hardness, Vol. 1st ed.*, John Wiley & Sons, **1997**.
- [2] V. S. Sastri, J. C. Bünzli, V. R. Rao, G. V. S. Rayudu, J. R. Perumareddi, *Modern Aspects of Rare Earths and their Complexes*, Amsterdam, **2003**.
- [3] G. R. Choppin, *Journal of the Less-Common Metals* **1984**, *100*, 141.
- [4] J. C. Bünzli, G. R. Choppin, in *Chemical Properties of Rare Earths Elements*, **1989**, pp. 1.
- [5] T. Moeller, *Complexes of Lanthanide, Vol. 7*, Butterworths, University Park Press ed., K.W. Bagnall.
- [6] R. D. Shannon, *Acta Crystallogr.* **1969**, *25*, 925.
- [7] V. W. W. Yam, K. K. W. Lo, *Coord. Chem. Rev.* **1999**, *184*, 157.
- [8] D. Parker, J. A. Williams, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **1996**, 3613.
- [9] J. H. Turner, P. G. Claringbold, E. L. Hetherington, P. Sorby, A. A. Martindale, *J. Clin. Oncol.* **1989**, *7*, 1926.
- [10] E. L. Hegg, J. N. Burstyn, *Coord. Chem. Rev.* **1998**, *173*, 133.
- [11] H. J. Schneider, J. Rammo, R. Hettich, *Angew. Chem.-Int. Edit.* **1993**, *32*, 1716.
- [12] N. Sabbatini, M. Guardigli, J. M. Lehn, *Coord. Chem. Rev.* **1993**, *123*, 201.
- [13] J. C. G. Bunzli, C. Piguet, *Chem. Soc. Rev.* **2005**, *34*, 1048.
- [14] H. H. Dam, D. N. Reinhoudt, W. Verboom, *Chem. Soc. Rev.* **2007**, *36*, 367.
- [15] R. Wietzke, M. Mazzanti, J.-M. Latour, J. Pecaut, P.-Y. Cordier, C. Madic, *Inorg. Chem.* **1998**, *37*, 6690.
- [16] P. Caravan, J. J. Ellison, T. J. McMurry, R. B. Lauffer, *Chem. Rev.* **1999**, *99*, 2293.
- [17] K. Kuriki, Y. Koike, Y. Okamoto, *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 2347.
- [18] J. Kido, Y. Okamoto, *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 2357.
- [19] H. Goldstein, W. Lumma, A. Rudzik, *Ann. Rep. Med. Chem.* **1989**, *24*, 265.
- [20] N. Bloembergen, L. O. Morgan, *J. Chem. Phys.* **1961**, *34*, 842.
- [21] I. Solomon, N. Bloembergen, *J. Chem. Phys.* **1956**, *25*, 261.
- [22] E. Toth, L. Helm, A. Merbach, *The Chemistry of Contrast Agents in Medical Magnetic Resonance Imaging*, 1st ed., Wiley, Chichester, **2001**.
- [23] G. Elizondo, C. J. Fretz, D. D. Stark, S. M. Rocklage, S. C. Quay, D. Worah, Y. M. Tsang, M. C. M. Chen, J. T. Ferrucci, *Radiology* **1991**, *178*, 73.
- [24] S. M. Rocklage, W. P. Cacheris, S. C. Quay, F. E. Hahn, K. N. Raymond, *Inorg. Chem.* **1989**, *28*, 477.
- [25] H. Gries, *Contrast Agents I, Magnetic Resonance Imaging, Vol. 221*, Springer-Verlag ed., Berlin Heidelberg, **2002**.
- [26] R. A. Dwek, *Relaxation in paramagnetic systems. Nuclear Magnetic Resonance (NMR) in Biochemistry*, Clarendon Press ed., Oxford, **1973**.

- [27] T. J. Swift, R. E. Connick, *J. Chem. Phys.* **1962**, *37*, 307.
- [28] Z. Luz, S. J. Meiboom, *J. Chem. Phys.* **1963**, *39*, 366.
- [29] P. H. Fries, C. Gateau, M. Mazzanti, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 15801.
- [30] A. D. McLachlan, *Proceedings of the Royal Society of London Series a-Mathematical and Physical Sciences* **1964**, *280*, 271.
- [31] P. Caravan, *Chem. Soc. Rev.* **2006**, *35*, 512.
- [32] Y. Ayant, E. Belorizky, J. Alizon, J. Gallice, *Journal de Physique* **1975**, *36*, 991.
- [33] L. P. Hwang, J. H. Freed, *J. Chem. Phys.* **1975**, *63*, 4017.
- [34] J. H. Freed, *J. Chem. Phys.* **1978**, *68*, 4034.
- [35] J. P. Albrand, M. C. Taieb, P. H. Fries, E. Belorisky, *J. Chem. Phys.* **1983**, *78*, 5809.
- [36] C. F. Polnaszek, R. G. Bryant, *J. Chem. Phys.* **1984**, *81*, 4038.
- [37] M. Botta, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2000**, 399.
- [38] S. Aime, M. Botta, S. G. Crich, G. B. Giovenzana, R. Pagliarin, M. Piccinini, M. Sisti, E. Terreno, *J. Biol. Inorg. Chem.* **1997**, *2*, 470.
- [39] M. Botta, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2000**, 399.
- [40] R. B. Lauffer, *Chem. Rev.* **1987**, *87*, 901.
- [41] D. A. Fulton, E. M. Elemento, S. Aime, L. Chaabane, M. Botta, D. Parker, *Chem. Commun.* **2006**, 1064.
- [42] A. V. Astashkin, A. M. Raitsimring, P. Caravan, *J. Phys. Chem. A* **2004**, *108*, 1990.
- [43] M. B. Yim, M. W. J. Makinen, *J. Magn. Res.* **1986**, *70*, 89.
- [44] L. Helm, A. E. Merbach, *Coord. Chem. Rev.* **1999**, *187*, 151.
- [45] S. Rast, E. Belorizky, P. H. Fries, *J. Chem. Phys.* **2000**, *113*, 8724.
- [46] H. D. Powell, O. M. N. Ni Dhubhghaill, D. Pubanz, L. Helm, Y. S. Lebedev, W. Schlaepfer, A. E. Merbach, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 9333.
- [47] P. H. Fries, E. Belorizky, *J. Chem. Phys.* **2005**, *123*.
- [48] X. Z. Zhou, P. Caravan, R. B. Clarkson, P. O. Westlund, *J. Magn. Reson.* **2004**, *167*, 147.
- [49] L. Vander Elst, M. Port, I. Raynal, C. Simonot, N. R. Muller, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2003**, 2495.
- [50] T. N. Parac-Vogt, K. Kimpe, S. Laurent, L. Vander Elst, C. Burtea, F. Chen, R. N. Muller, Y. C. Ni, A. Verbruggen, K. Binnemans, *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 3077.
- [51] C. Corot, X. Violas, P. Robert, G. Gagneur, M. Port, *Invest. Radiol.* **2003**, *38*, 311.
- [52] G. M. Nicolle, E. Toth, H. Schmitt-Willich, B. Raduchel, A. E. Merbach, *Chem. Eur. J.* **2002**, *8*, 1040.
- [53] C. Platas-Iglesias, L. Vander Elst, W. Z. Zhou, R. N. Muller, C. Geraldes, T. Maschmeyer, J. A. Peters, *Chem. Eur. J.* **2002**, *8*, 5121.

- [54] B. Sitharaman, K. R. Kissell, K. B. Hartman, L. A. Tran, A. Baikalov, I. Rusakova, Y. Sun, H. A. Khant, S. J. Ludtke, W. Chiu, S. Laus, E. Toth, L. Helm, A. E. Merbach, L. J. Wilson, *Chem. Commun.* **2005**, 3915.
- [55] E. Toth, R. D. Bolskar, A. Borel, G. Gonzalez, L. Helm, A. E. Merbach, B. Sitharaman, L. J. Wilson, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 799.
- [56] S. Aime, L. Frullano, S. Geninatti Crich, *Angew. Chem.-Int. Edit.* **2002**, *41*, 1017.
- [57] V. Jacques, J. F. Desreux, in *Topics in Current Chemistry, Vol. 221* (Ed.: W. Krause), **2002**, p. 123.
- [58] M. Port, O. Rousseaux, I. Raynal, M. Woods, D. Parker, J. Moreau, J. Rimbault, J. C. Pierrard, M. Aplincourt, *Academic Radiology* **2002**, *9*, S300.
- [59] I. Castro-Rodriguez, K. Olsen, P. Gantzel, K. Meyer, *Chem. Commun.* **2002**, 2764.
- [60] J. P. Andre, C. F. G. C. Geraldles, J. A. Martins, A. E. Merbach, M. I. M. Prata, A. C. Santos, J. J. P. de Lima, E. Toth, *Chem. Eur. J.* **2004**, *10*, 5804.
- [61] J. Lee, M. J. Zylka, D. J. Anderson, J. E. Burdette, T. K. Woodruff, T. J. Meade, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 13164.
- [62] G. A. Lemieux, K. J. Yarema, C. L. Jacobs, C. R. Bertozzi, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 4278.
- [63] L. Frullano, J. Rohovec, S. Aime, T. Maschmeyer, M. I. Prata, J. J. Pedroso de Lima, C. F. G. C. Geraldles, J. A. Peters, *Chem. Eur. J.* **2004**, *10*, 5205.
- [64] P. Caravan, J. M. Greenwood, J. T. Welch, S. J. Franklin, *Chem. Commun.* **2003**, 2574.
- [65] W. Li, S. E. Fraser, T. J. Meade, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 1413.
- [66] R. A. Moats, S. E. Fraser, T. J. Meade, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 726.
- [67] J. A. Duimstra, F. J. Femia, T. J. Meade, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 12847.
- [68] S. Aime, A. Barge, M. Botta, J. A. K. Howard, R. Katakya, M. P. Lowe, J. M. Moloney, D. Parker, A. S. deSousa, *Chem. Commun.* **1999**, 1047.
- [69] P. W. Lowe, D. Parker, O. Reany, S. Aime, M. Botta, G. Castellano, E. Gianolio, R. Pagliarin, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 7601.
- [70] M. Woods, S. Zhang, V. H. Ebron, A. D. Sherry, *Chem. Eur. J.* **2003**, *9*, 4634.
- [71] M. Woods, G. E. Kiefer, S. Bott, A. Castillo-Muzquiz, C. Eshelbrenner, L. Michaudet, K. McWilliam, S. D. K. Mudigunda, D. Grin, G. Tircso, S. R. Zhang, P. Zhao, A. D. Sherry, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 9248.
- [72] J. R. Lakowicz, *Principles of Fluorescence Spectroscopy, 2nd edition*, Kluwer Academics / Plenum Publishers, New York, **1999**.
- [73] R. Haugland, Web edition ed., Invitrogen.
- [74] N. Panchuk-Voloshina, R. P. Hauglang, J. Bishop-Stewart, M. K. Bhalgat, P. J. Millard, F. Mao, W. Y. Leung, R. P. Hauglang, *J. Histochem. Cytochem.* **1999**, *47*, 1179.
- [75] W. Zhao, E. M. Carreira, *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 7254.

- [76] D. Parker, J. A. G. Williams, in *Metal Ions in Biological Systems, Vol. 40* (Eds.: A. Siegel, H. Siegel), **2003**, p. 233.
- [77] N. M. Shavaleev, G. Accorsi, D. Virgili, Z. R. Bell, T. Lazarides, G. Calogero, N. Armaroli, M. D. Ward, *Inorg. Chem.* **2005**, *44*, 61.
- [78] D. Imbert, M. Cantuel, J. C. G. Bunzli, G. Bernardinelli, C. Piguet, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 15698.
- [79] G. A. Crosby, M. Kasha, *Spectrochim. Acta* **1958**, *10*, 377.
- [80] W. D. Horrocks, J. P. Bolender, W. D. Smith, R. M. Supkowski, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 5972.
- [81] D. L. Dexter, *J. Chem. Phys.* **1953**, *21*, 836.
- [82] T. H. Förster, *Discussion Faraday Soc.* **1959**, *27*, 7.
- [83] A. P. D. Silva, H. Q. N. Gunaratne, T. Gunnlaugsson, A. J. M. Huxley, C. P. McCoy, J. T. Rademacher, T. E. Rice, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *25*, 2116.
- [84] A. P. D. Silva, H. Q. N. Gunaratne, T. Gunnlaugsson, A. J. M. Huxley, C. P. McCoy, J. T. Rademacher, T. E. Rice, *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 1515.
- [85] M. Latva, H. Takalo, V. M. Mikkala, C. Matachescu, J. C. Rodriguez-Ubis, J. Kantare, *J. Lum.* **1997**, *75*, 149.
- [86] D. Parker, J. Yu, *Chem. Commun.* **2005**, 3141.
- [87] T. Gunnlaugsson, D. A. M. Donnell, D. Parker, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 12866.
- [88] T. Gunnlaugsson, J. P. Leonard, K. Senechal, A. J. Harte, *Chem. Commun.* **2004**, 782.
- [89] O. Reany, T. Gunnlaugsson, D. Parker, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **2000**, 1819.
- [90] A. P. D. Silva, H. Q. N. Gunaratne, T. E. Rice, S. Stewart, *Chem. Commun.* **1997**, 1891.
- [91] C. Li, W. T. Wong, *Chem. Commun.* **2002**, 2034.
- [92] M. P. Lowe, D. Parker, O. Reany, S. Aime, M. Botta, G. Castellano, E. Gianolio, R. Pagliarin, *Journal of the American Chemical Society* **2001**, *123*, 7601.
- [93] I. Hemmilä, S. Dakubu, V. M. Mikkala, H. Siitari, T. Lövgren, *Anal. Biochem.* **1984**, *137*, 335.
- [94] S. Faulkner, J. L. Matthews, *Comprehensive Coordination Chemistry II, Vol. 9*, Elsevier, Oxford, UK, **2004**.
- [95] H. Bazin, M. Préaudat, E. Trinquet, G. Mathis, *Spectrochim. Acta Part A* **2001**, *57*, 2197.
- [96] G. Mathis, *Clin. Chem.* **1995**, *41*, 1391.
- [97] A. K. Saha, K. Kross, E. D. Kloszewski, D. A. Upson, J. L. Toner, R. A. Snow, C. D. V. Black, V. C. Desai, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 11032.
- [98] D. J. Bornhop, J. M. M. Griffin, T. S. Goebel, M. R. Sudduth, B. Bell, M. Motamedi, *Appl. Spectrosc.* **2003**, *57*, 1216.
- [99] H. C. Manning, T. Goebel, R. C. Thompson, R. R. Price, H. Lee, D. J. Bornhop, *Bioconjugate Chem.* **2004**, *15*, 1488.

- [100] A. Mishra, J. Pfeuffer, R. Mishra, J. Engelmann, A. K. Mishra, K. Ugurbil, N. K. Logothetis, *Bioconjugate Chem.* **2006**, *17*, 773.
- [101] I. Nasso, C. Galaup, F. Havas, P. Tisnès, C. Picard, S. Laurent, L. V. Elst, R. N. Muller, *Inorg. Chem.* **2005**, *44*, 8293.
- [102] J. S. Troughton, M. T. Greenfield, J. M. Greenwood, S. Dumas, A. J. Wiethoff, J. F. Wang, M. Spiller, T. J. McMurry, P. Caravan, *Inorg. Chem.* **2004**, *43*, 6313.
- [103] Y. Bretonnière, M. Mazzanti, F. A. Dunand, A. E. Merbach, J. Pécaut, *Inorg. Chem.* **2001**, *40*, 6737.
- [104] M. Botta, S. Aime, A. Barge, G. Bobba, R. S. Dickins, D. Parker, E. Terreno, *Chem. Eur. J.* **2003**, *9*, 2102.
- [105] N. Chatterton, Y. Bretonnière, M. Mazzanti, J. Pécaut, *Angew. Chem.-Int. Edit.* **2005**, *44*, 7595.
- [106] D. Imbert, S. Comby, A.-S. Chauvin, J.-C. Bünzli, *Chem. Commun.* **2005**, 1432.

II - Synthèse des ligands

I. Conception des ligands	75
II. Ligands tripodes à pivot 1,4,7-triazacyclononane	79
II.1. Synthèse et caractérisation des ligands à motif picolinate	79
II.1.1. Etude bibliographique : réaction de bisubstitution	80
II.1.2. Synthèse du 1,4-bis[6-carbéthoxy-pyridin-2-yl)méthyl]-1,4,7-triazacyclononane par synthèse directe	85
II.1.3. Synthèse et caractérisation des ligands H ₃ bpatcn, H ₃ ebpatcn, H ₄ pbpatcn et H ₃ mpatcn	88
II.2. Synthèse et caractérisation des ligands à motif hydroxyquinoléine	95
II.2.1. Synthèse et caractérisation du ligand H ₃ thqtcn	96
II.2.2. Synthèse et caractérisation du ligand H ₆ thqtcn-SO ₃	97
III. Ligands tripodes à pivot amine centrale	99
III.1. Synthèse et caractérisation du ligand H₃dpaa	99
III.2. Synthèse et caractérisation du ligand H₄dpaba	100

I. Conception des ligands

Nous avons vu en introduction que la structure et l'architecture du ligand ont une grande influence sur les propriétés du complexe de lanthanide associé. Plusieurs stratégies ont été développées pour encapsuler les ions lanthanides dans une structure aux propriétés prédéterminées.

La première approche est basée sur le principe clef-serrure : le ligand est constitué d'une cavité coordinante dont les propriétés (taille, nombre, nature et disposition des atomes donneurs) sont prédéfinies en fonction de l'ion à coordonner et des propriétés souhaitées.^[1] Des ligands macrocycliques (coronants)^[2] ou polycycliques (cryptants)^[3, 4] sont utilisés. La préorganisation de ce type de récepteur vise à minimiser le coût entropique de la complexation. Plusieurs exemples de complexes luminescents avec des cryptants de Lehn ont été décrits en introduction.^[5] La difficulté dans le développement de ce type de ligands réside dans l'ajustement de la cavité à la taille de l'ion considéré ce qui rend le contrôle de la sphère de coordination du métal délicat. Une petite modification des groupes fonctionnels peut se traduire par une variation importante de la taille de la cavité, et donc de la stabilité du complexe.

Pour pallier à ces difficultés, une deuxième approche, basée sur le concept d'ajustement induit a été développée.^[6] Cette approche prend en compte la flexibilité des ligands : la cavité de coordination est construite par « enroulement » du ligand autour de l'ion métallique qui joue alors le rôle d'un agent template. L'absence de préorganisation des ligands défavorise entropiquement la complexation. Ce sont des interactions secondaires intramoléculaires entre les ligands qui vont agir sur la stabilité des édifices formés. Ces interactions sont dirigées par le ligand et par les propriétés structurales (taille, géométrie) et électroniques du complexe.^[7] Ainsi, cette approche permet un meilleur contrôle de la sphère de coordination du complexe. L'utilisation de ce principe a donné naissance à de nombreuses familles de ligands : les macrocycles ramifiés, les auto-assemblages et les podants (Figure II. 1).

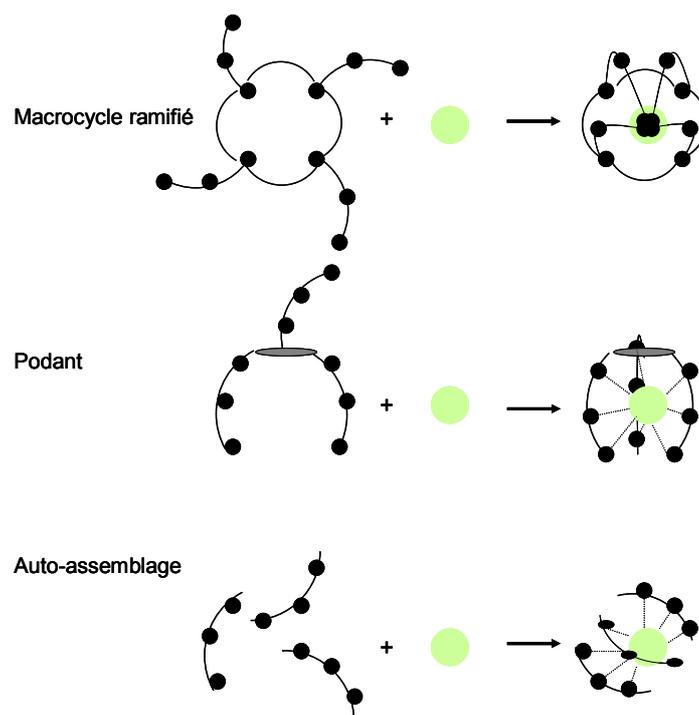


Figure II. 1 : Représentation schématique des différentes familles de ligands flexibles.

De nombreux exemples d'utilisation de cyclènes fonctionnalisés, de type DOTA⁴⁻ ou DO3A³⁻ ont été vus en introduction. Ces ligands forment des complexes extrêmement stables avec les ions Ln(III). Nous avons vu en introduction que ce sont les ligands les plus utilisés actuellement pour le développement d'agents de contraste et de sondes luminescentes.^[8-10]

Des auto-assemblages en triple-hélice ont également été synthétisés au laboratoire du Pr. C. Piguet.^[11,12] Ces hélicates permettent l'accès à de nouveaux systèmes hétérobimétalliques d-f.^[13] En choisissant un métal d approprié, ces édifices supramoléculaires peuvent posséder des propriétés magnétiques ou spectroscopiques intéressantes.

La dernière famille est constituée des ligands podants. Parmi eux, les polyaminocarboxylates linéaires dérivées de l'EDTA⁴⁻ ou de la DTPA⁵⁻ ont été largement étudiés pour le développement d'agents de contraste.^[14] Le principal inconvénient de ces systèmes est leur faible symétrie et leur flexibilité importante. De plus, ils conduisent majoritairement à des complexes anioniques présentant une grande osmolarité en milieu physiologique. Les ligands tripodes constituent une approche intermédiaire entre l'utilisation de récepteurs rigides et celle des ligands linéaires flexibles. Ils allient à la fois prédisposition et stabilité des complexes formés à une cinétique de complexation rapide apportée par une structure ouverte flexible. Plusieurs motifs (ou ancres) permettent d'accéder à l'élaboration de ligands tripodes : le motif amine tertiaire pour lequel trois fonctions coordinantes sont reliées à un azote central par des ponts méthylènes (ou éthylènes), le motif tren^[15] pour lequel un azote central est en général lié à trois fonctions amide par des ponts éthylènes et la plateforme 1,4,7- triazacyclononane (tacn). Ces trois motifs sont représentés ci-dessous avec un exemple d'application (Figure II. 2).

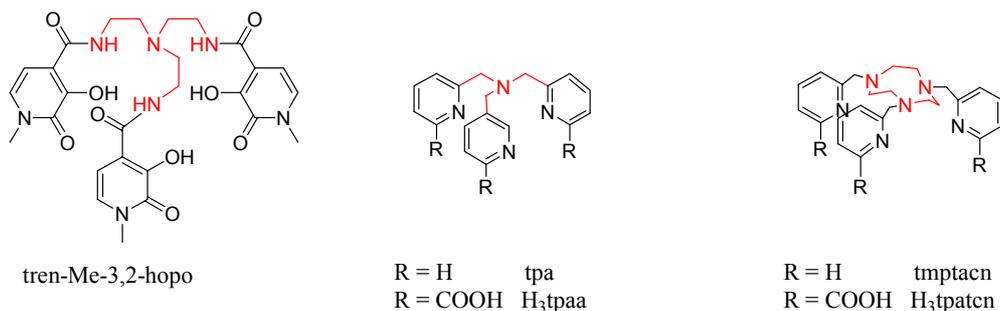


Figure II. 2 : Principaux motifs conduisant à la synthèse de ligands tripodes et exemples de ligands.

Les motifs utilisés pour la chimie de coordination des lanthanides(III) ont été empruntés à la chimie des métaux de transition. Le motif tren a largement été utilisé pour la complexation des métaux de transition^[16-19], puis pour celle des Ln(III). Par exemple, le groupe de K.N. Raymond a développé une série de ligands dérivés du ligand tren-Me-3,2-hopo dont les complexes de Gd(III) possèdent des propriétés de relaxivité intéressantes.^[15, 20] Le principal avantage du motif tren réside dans la facilité de synthèse des ligands et dans son adaptabilité. En effet, différents groupements peuvent être incorporés par la formation d'une liaison amide avec les amines primaires terminales. Cependant, le groupement carbonyle peut agir comme groupement coordonnant comme dans le cas du ligand tren-dpaam développé par C. Piguet et ses collaborateurs.^[21]

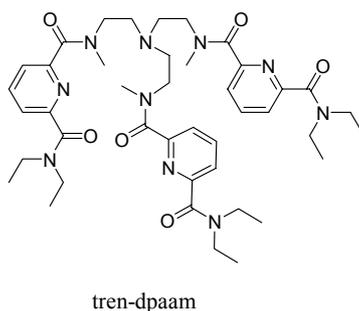


Figure II. 3 : Structure du ligand tren-dpaam.

Les tripodes possédants des ponts méthylènes sont plus coûteux en synthèse organique mais donnent lieu à la formation de systèmes plus rigides. Ils sont utilisés depuis longtemps pour la complexation des métaux de transition comme le Cu(I)^[22, 23] et le Fe(II)^[24] en vue de développer des modèles fonctionnels et structuraux des sites actifs de métalloprotéines ou d'enzymes. Par exemple, le ligand tpa a été synthétisé pour la première fois par G. Anderegg et F. Wenk en 1967.^[25] Les premiers essais d'utilisation du ligand tpa pour la complexation des lanthanides ont été réalisés au laboratoire. Des complexes 1 : 1 stables dans le méthanol ont été obtenus ; cependant, ils se dissocient partiellement dans l'eau.^[26] En vue d'augmenter la stabilité du complexe, le ligand H₃tpaa a été synthétisé et les complexes de Gd(III) associés possèdent des propriétés de relaxivité intéressantes.^[27] Enfin, nous avons vu en introduction que, le ligand 1,4,7-triazacyclononane ainsi que ses dérivés s'avèrent être également des bons ligands des métaux de transition et sont utilisés pour le développement de mimes de sites actifs de métalloprotéines.^[28, 29] En particulier, la structure et les propriétés de complexation de

plusieurs cations ($M = \text{Na}^+, \text{Ca}^{2+}, \text{Cu}^{2+}, \text{Zn}^{2+}, \dots$) par le ligand tmptacn ont été étudiées^[30, 31]. La coordination du Ni(II) avec l'analogue pentadente dmptacn a également été étudiée par le groupe de L. Spiccia (Figure II. 4).^[32] Toutefois, il faut noter que la synthèse des composés dissymétriques est beaucoup plus délicate que celle des composés symétriques et souvent peu reproductible.

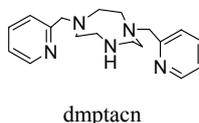


Figure II. 4 : Structure du ligand dmptcn. ^[32]

De manière analogue au ligand H₃tpaa, un ligand nonadente (tpatcn) possédant trois unités picolinate greffées sur le pivot 1,4,7-triazacyclononane a été développé au laboratoire.^[33] Il forme un complexe stable en solution aqueuse avec l'ion Gd(III) qui possède une relaxation électronique exceptionnellement lente à bas champ, à l'origine d'une relaxivité particulièrement élevée pour les faibles valeurs de champs magnétiques.

II. Ligands tripodes à pivot 1,4,7-triazacyclononane

II.1. Synthèse et caractérisation des ligands à motif picolinate

Le complexe de Gd(III) du ligand H₃tpatcn possède une relaxation électronique intéressante. Toutefois, son utilisation en tant qu'agent de contraste pour l'IRM est limitée par sa faible relaxivité due à l'absence de molécules d'eau dans sa sphère de coordination. Des modifications structurales du ligand H₃tpatcn ont donc été envisagées afin d'y incorporer des molécules d'eau. Une série de ligands octadentes et un ligand heptadente, analogues du ligand H₃tpatcn, ont été synthétisés (Figure II. 5). Différents groupements R₁, R₂ et R₃ ont été incorporés afin d'étudier leur influence sur la structure des complexes en solution, leur stabilité et également leur propriétés de relaxivité.

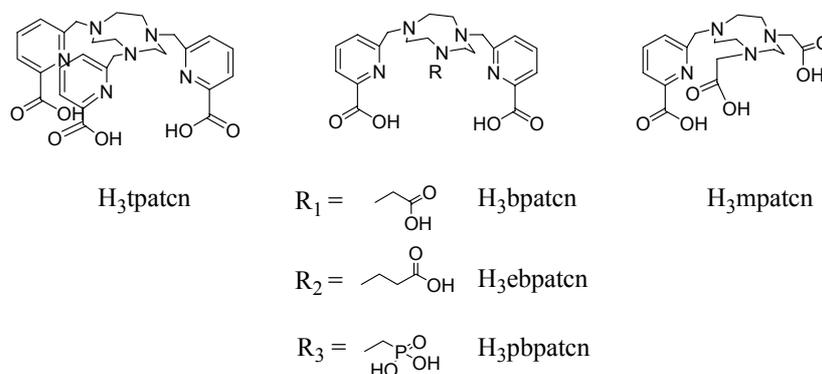


Figure II. 5 : Le ligand H₃tpatcn et ses analogues.

Pour ces quatre nouveaux ligands, les azotes du 1,4,7-triazacyclononane sont substitués de manière dissymétrique. La synthèse sélective de triazacyclononanes (tacn) non symétriques implique la différenciation des trois azotes du macrocycle et est délicate. Plusieurs techniques de synthèses de 1,4,7-triazacyclononane mono- et disubstituées ont été reportées dans la littérature.^[28]

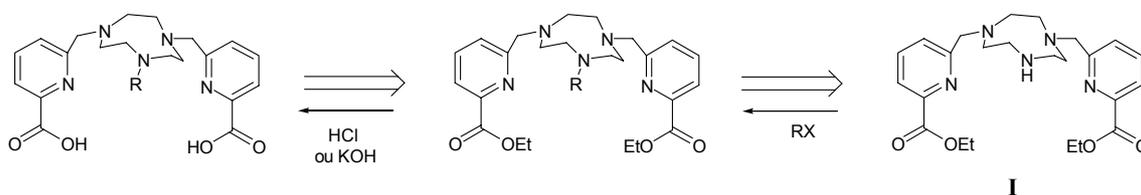


Figure II. 6 : Analyse rétrosynthétique des ligands H₃bpatcn, H₃ebpatcn et H₃pbpatcn.

Une analyse rétrosynthétique rapide (Figure II. 6) indique que les trois ligands H₃bpatcn, H₃ebpatcn et H₃pbpatcn peuvent être obtenus à partir du même intermédiaire disubstitué I. Une fois cet

intermédiaire clé obtenu, le troisième bras peut être ajouté par substitution nucléophile de l'amine secondaire du composé I par des halogénures d'alkyle (ou de phosphonyle) RX.

Notons également que la protection des acides carboxyliques sous forme d'esters facilite la purification des ligands. En effet, au contraire des dérivés acide carboxylique qui ne sont solubles qu'en milieu aqueux, les esters sont solubles dans les solvants organiques et peuvent être purifiés par les techniques classiques (extraction, chromatographie sur gel de silice ou d'alumine,...). Nous avons choisi une protection par des esters éthyliques car celle-ci est largement utilisée pour les acides picoliniques. Leur hydrolyse pourra ensuite être réalisée en milieu acide (HCl 6M à reflux)^[34] ou dans des conditions basiques (KOH dans un mélange éthanol/eau à reflux).^[27, 33, 35]

La difficulté de la synthèse réside alors dans l'obtention de l'intermédiaire I. Cela nous conduit donc à examiner les différentes possibilités de synthèses décrites dans la littérature.

II.1.1. Etude bibliographique : réaction de bisubstitution

Nous avons vu au paragraphe précédent que les ligands dérivés du 1,4,7-triazacyclononane forment des complexes stables avec les métaux de transition. Ces composés peuvent être utilisés dans la médecine inorganique, comme photosensibilisateurs dans des cellules solaires, comme modèles d'enzymes ou encore comme catalyseurs de réactions organiques.^[36] Dans le but d'ajuster plus finement l'environnement de coordination autour du métal, les ligands dissymétriques sont de plus en plus étudiés. Quatre voies de synthèse sont principalement utilisées : les réactions de protection/déprotection sélectives, la synthèse par un intermédiaire orthoamide, les réactions de cyclisation et la synthèse directe.

- **Protection / déprotection sélective**

Des réactions de protection ou de déprotection du 1,4,7-triazacyclonane ont été étudiées avec divers groupements. Parmi ces méthodes, la déprotection sélective du tacn tritosylé est la plus couramment utilisée. En effet, la synthèse « classique » du 1,4,7-triazacyclononane par cyclisation conduit à l'intermédiaire tri-tosylé.^[37-39] La déprotection des groupements tosyloxy a logiquement été étudiée. Le traitement du tacn tri-tosylé par un mélange acide bromhydrique/acide acétique en présence de phénol conduit au dérivé mono-tosylé de façon parfaitement sélective avec un rendement de 91% (Figure II. 7).^[40, 41]

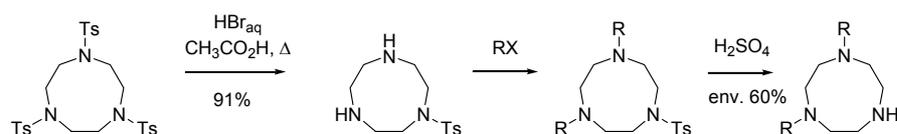


Figure II. 7 : Fonctionnalisation à partir de déprotections sélectives du tacn tri-tosylé.

Des développements récents par les équipes de W.G. Jackson et M. Schröder ont conduit au dérivé di-tosylé avec un rendement de 62%.^[42, 43]

La mono-benzoylation sélective du tacn a également été étudiée par N. A. Meanwell et al. La réaction du tacn avec le chlorure de benzoyl en présence de butyl lithium donne lieu à la formation d'un mélange 20 : 1 de produits mono- et di-substitué respectivement, avec un rendement global de 85% (Figure II. 8).^[44] La réduction du groupement benzoyl permet de libérer l'amine secondaire.

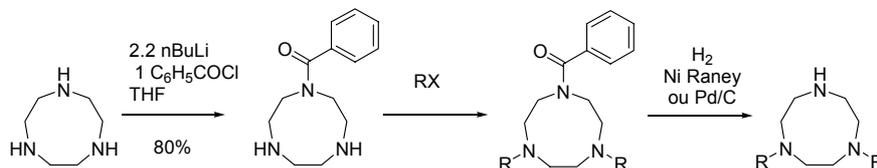


Figure II. 8 : Fonctionnalisation du tacn par mono-benzoylation sélective.

De même, D. Sherry et Z. Kovacs ont développé une méthode de protection sélective de deux azotes du tacn par des groupements *ter*-butoxycarbonyl (Boc) ou benzyloxycarbonyl (Z) (Figure II. 9).^[45] L'utilisation du *ter*-butoxycarbonyloxyimino-2-phenyl acétonitrile (Boc-ON) et du benzyloxycarbonyloxyimino-2-phenyl acétonitrile (Z-ON) permet d'isoler les produits diprotégés avec des rendements de 74% et 75% respectivement.

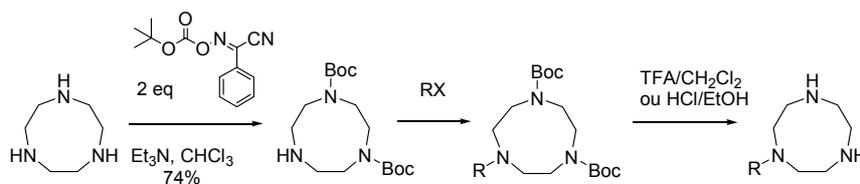


Figure II. 9 : Di-protection sélective du tacn par le groupement Boc.

D'autres études ont été réalisées^[46-48] mais aucune méthode directe d'obtention du dérivé mono-protégé avec de bons rendements n'a été mise au point.

Finalement, la préparation du composé di-trifluoroacétylé (di-TFA tacn) avec un rendement de 74% a été réalisée par D. Moore et al^[49] par réaction du tacn avec le trifluoroacétate d'éthyle en excès (Figure II. 10).

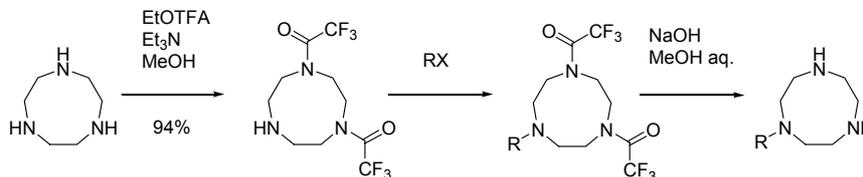


Figure II. 10 : Fonctionnalisation du tacn par di-protection sélective par un groupement trifluoroacétylé.

- **Voie orthoamide**

Cette méthode de protection est spécifique au 1,4,7-triazacyclononane. C'est l'une des voies les plus utilisées pour la synthèse de tacn *N*-fonctionnalisés avec des groupements alcène, alcyne, acide carboxylique, ester, phénolate...

Les trois amines réagissent avec un équivalent d'orthoformate d'éthyle pour former le 1,4,7-triazacyclo[5.2.1.0^{4.10}]-decane.^[50, 51] Cet orthoamide est ensuite traité par un équivalent d'halogénure alkyl pour donner, après hydrolyse, le dérivé mono-alkylé et formylé avec des rendements de 60 à 90%.^[52-57] Des méthodes d'accès au dérivé di-alkylé sont également décrites.^[58] Il faut noter que cette méthode permet une différenciation totale de trois azotes du cycle (Figure II. 11).^[36]

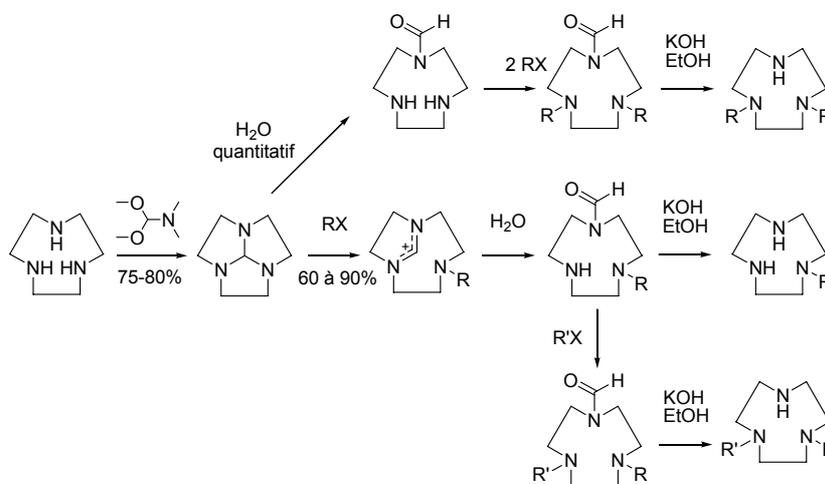


Figure II. 11 : Fonctionnalisation du tacn par formylation sélective.

- **Cyclisation**

Plusieurs techniques de synthèse des macrocycles polyazotés décrites dans la littérature font appel à la cyclisation sous haute dilution^[59] ou par effet template.^[60] Cependant, les méthodes les plus utilisées sont dérivées de celle de J. E. Richman et T. J. Atkins impliquant la cyclisation d'un sel de tosylamide linéaire avec un thiol di-tosylé.^[37]

Plus particulièrement, deux méthodes de connexion du cycle tacn ont été utilisées pour la synthèse de 1,4,7-triazacyclononane dissymétriques (voies A et B). Elles sont représentées Figure II. 12.

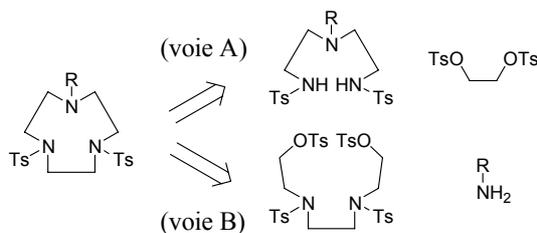


Figure II. 12 : Méthodes de connexion du cycle tacn.

Des essais de cyclisation dissymétrique par la méthode classique de Richman et Atkins (voie A) ont été réalisés avec une amine benzylée ($R = \text{Bn}$). Cependant, l'amine centrale portant le groupement benzyle est plus nucléophile que les amines terminales. Son attaque nucléophile sur un des tosylates est privilégiée et conduit à la formation préférentielle de la pipérazine (Figure II. 13).^[61, 62]

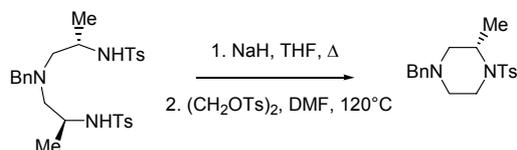


Figure II. 13 : Réaction nucléophile secondaire pour $R_1 = \text{Bn}$ (méthode A).

Cet écueil a pu être évité en remplaçant le groupement protecteur Bn par un groupement formyl.^[63]

Toutefois, la méthode la plus utilisée consiste en la réaction du *N,N'*-ditosylethylène diamine ditosylate sur une amine primaire (voie B). Par cette méthode, des dérivés benzylés ($R = \text{Bn}$) et alkylés ($R = \text{Bn}, \text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}, \text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}, \text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOtBu}, \text{CH}_2\text{CHOHCH}_2\text{OH}, \text{CH}_2\text{CHOHCH}_3$) ont été obtenus avec de bons rendements (82 à 92%).^[64-66]

Des séquences de cyclisation-réduction impliquant la réaction du bis-(chloroacétamide) avec une amine primaire ont également été envisagées (Figure II. 14). Toutefois, les rendements sont faibles (entre 15% et 40% après réduction).^[67, 68]

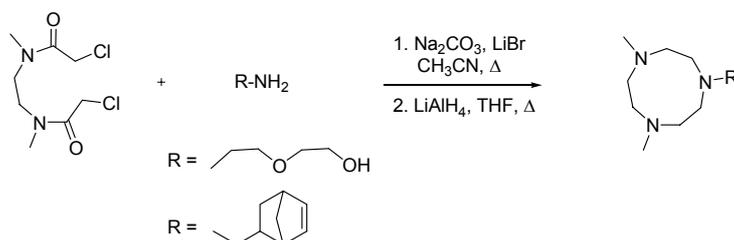
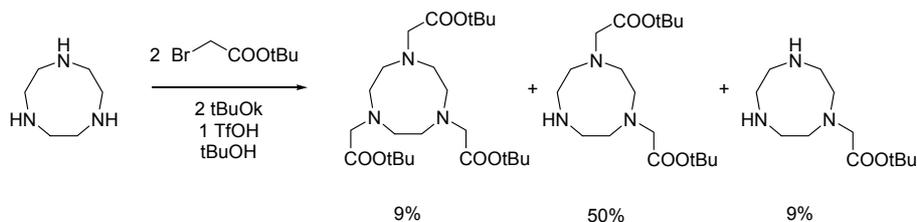


Figure II. 14 : Séquence de cyclisation réduction.

- Synthèse directe

L'obtention sélective de l'intermédiaire disubstitué par synthèse directe est délicate et conduit à un mélange des composés mono-, bi- et tri-substitués dans des proportions statistiques.^[69-71]

Les meilleurs rendements en produit bi-substitué ont été obtenus par J. Huskens et D. Sherry. Ceux-ci ont obtenu le composé $t\text{Bu}_2\text{NO}_2\text{A}$ par substitution nucléophile de l'ester *ter*-butyl bromoacetate sur le tacn avec un rendement de 50% (Figure II. 15). Ils ont montré que la formation du dérivé tri-substitué pouvait être inhibée par protonation sélective d'une des trois fonctions amine du triazacyclononane par ajout d'un équivalent d'acide trifluorométhane sulfonique TfOH.^[72]

Figure II. 15 : Synthèse directe du tBu₂NO₂A.

L. Spiccia et ses collaborateurs ont décrit en 1994 la disubstitution sélective du tacn par le chlorure de picolyne dans l'eau. La sélectivité est contrôlée par le pH, maintenu à 9 par ajouts successifs de NaOH (Figure II. 16).^[32] Cependant, des problèmes de reproductibilité ont amené les auteurs à utiliser une autre méthode de synthèse lors de leurs nouvelles études.^[58]

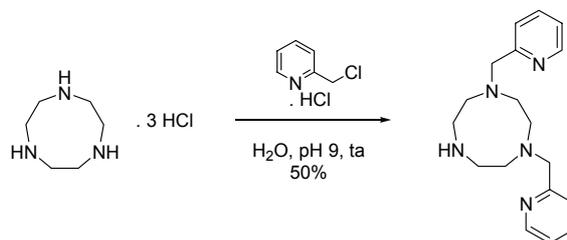


Figure II. 16 : Synthèse directe du dmpten.

- **Bilan de l'étude bibliographique**

Au vu de la littérature, les méthodes de fonctionnalisation spécifiques du tacn présentent les avantages et les inconvénients suivants :

- Les méthodes par protections et déprotections successives ont l'inconvénient majeur de multiplier les étapes de synthèses. De plus, ce phénomène est exacerbé lors de l'utilisation de groupements protecteurs non orthogonaux (comme dans le cas des groupements éthyle, tosyle et formyle utilisés ici). Surtout, les conditions de déprotection (acide/base ou hydrogénation catalytique) sont incompatibles avec la présence d'esters ou de pyridines.
- La méthode par cyclisation présente l'avantage d'éviter l'achat de tacn commercial très coûteux (~80 € / 1g, Chematech) même si, ici encore, de nombreuses étapes de synthèse sont nécessaires. De plus, la cyclisation est fortement dépendante de la présence des groupements tosyle sur les amines, qui permettent d'une part, de contrôler la nucléophilie des amines terminales^[61, 62] et d'autre part, de placer la triamine dans une conformation favorable à la cyclisation, en empêchant la libre rotation autour des liaisons voisines des groupes NTs.
- La synthèse directe est la plus avantageuse car elle permet de limiter le nombre d'étapes de synthèse. De plus, des rendements jusqu'à 50% en bi-substitué ont déjà été obtenus par

L. Spiccia et ses collaborateurs. Les principaux inconvénients de cette méthode sont liés au manque de reproductibilité et aux difficultés de purification. Afin de faciliter la séparation des trois dérivés mono-, bi- et tri-substitués, nous avons opté pour la synthèse des esters correspondants. Notons également que dans notre cas, le produit secondaire mono-substitué n'est pas synthétisé à perte car il sera utilisé comme produit de départ pour la synthèse du ligand H₃mpatcn. De même, le produit tri-substitué est un intermédiaire dans la synthèse du ligand H₃tpatcn. Les conditions de réaction ont été étudiées pour d'une part optimiser le rendement de bisubstitution et, d'autre part, améliorer la reproductibilité de la synthèse.

II.1.2. Synthèse du 1,4-bis[6-carbethoxypyridin-2-yl)methyl]-1,4,7-triazacyclononane par synthèse directe

L'influence de différents facteurs sur la sélectivité de la réaction de substitution directe a été étudiée : la stœchiométrie (nombre d'équivalents de base et d'amine), le solvant, la base et la dilution. De nombreux essais ont été réalisés au laboratoire en faisant varier ces paramètres. Ils sont récapitulés dans le Tableau II. 1.

N°	Nature de la base	Nbre d'eq de base	Nbre d'eq de tacn	Nature du solvant	C (M)	Rdt TRI	Rdt BI	Rdt MONO	Rdt Total
<i>Influence du solvant</i>									
1	iPr ₂ EtN	7.5	1.5	CH ₃ CN	0.05	36	39	10	85
2	iPr ₂ EtN	7.5	1.5	EtOH	0.05	10	55	22	87
3	iPr ₂ EtN	7.5	1.5	CHCl ₃	0.05	21	41	20	81
4	iPr ₂ EtN	7.5	1.5	DMF	0.05	18	48	14	80
<i>Influence de la base</i>									
5	iPr ₂ EtN	7.5	1.5	EtOH	0.05	10	55	22	87
6	Et ₃ N	7.5	1.5	EtOH	0.05	6	54	20	80
7	Me ₅ NCH ₆	7.5	1.5	EtOH	0.05	-			
8	iPr ₂ EtN	4.5	1.5	EtOH	0.05	3	36	13	52
9	K ₂ CO ₃	4.5	1.5	EtOH	0.05	17	19	9	45
10	CsCO ₃	4.5	1.5	EtOH	0.05	21	27	11	59
<i>Influence du nombre d'équivalent de base</i>									
11	iPr ₂ EtN	4.5	1.5	EtOH	0.05	3	36	13	52
12	iPr ₂ EtN	6	1.5	EtOH	0.05	8	53	9	70
13	iPr ₂ EtN	7.5	1.5	EtOH	0.05	10	55	22	87
14	iPr ₂ EtN	8	1.5	EtOH	0.05	12	52	11	75
<i>Influence du nombre d'équivalent de triazacyclonane</i>									
15	iPr ₂ EtN	7.5	3	EtOH	0.05	0	49	27	76
16	iPr ₂ EtN	7.5	2.5	EtOH	0.05	2	53	24	79
17	iPr ₂ EtN	7.5	2	EtOH	0.05	3	59	19	81
18	iPr ₂ EtN	7.5	1.5	EtOH	0.05	10	55	22	87
19	iPr ₂ EtN	7.5	1	EtOH	0.05	29	44	7	20
<i>Influence de la concentration</i>									
20	iPr ₂ EtN	7.5	1.5	EtOH	0.01	0	32	25	57
21	iPr ₂ EtN	7.5	1.5	EtOH	0.05	10	55	22	87
22	iPr ₂ EtN	7.5	1.5	EtOH	0.1	10	56	17	83
23	iPr ₂ EtN	7.5	1.5	EtOH	0.5	16	58	13	87
<i>Conditions optimisées</i>									
24	iPr ₂ EtN	7.5	2	EtOH	0.5	5	62	18	85

Tableau II. 1 : Etude de l'influence de différents facteurs sur les rendements de bisubstitution du tacn.

Les conclusions sont les suivantes :

- Le choix de la base est primordial (Tableau II. 1, N° 5 à 10). L'utilisation d'une base azotée défavorise la formation de produit tri-substitué, au profit du di-substitué. Le rendement de bisubstitution a été multiplié par trois en passant du carbonate de potassium à la diisopropyléthylamine. Cependant, dans le cas de bases moins encombrées comme la triéthylamine et la méthylpipéridine, la formation du produit de condensation du dérivé chloré sur la base est observée.
- Le choix du solvant est également important (Tableau II. 1, N° 1 à 4). D'une manière générale, la réaction de substitution nucléophile (S_N2) est défavorisée par l'utilisation de solvants polaires et protiques puisqu'ils stabilisent le nucléophile. De même, dans le cas des solvants aprotiques, le nucléophile est d'autant plus stabilisé que le pouvoir dissociant du solvant est fort. Nous observons en effet une baisse de réactivité lors de l'utilisation de DMF par rapport au chloroforme et à l'acétonitrile, plus polaires. Cette baisse s'accompagne d'une diminution de la formation de dérivé tri-substitué au profit du dérivé bi-substitué. Des rendements de 39 à 48% en bisubstitué ont été obtenus. Nous pouvons noter que des rendements de bisubstitution similaires ont été observés dans le chloroforme et l'acétonitrile et que la trisubstitution est favorisée en milieu acétonitrile. Cette observation va à l'encontre de ce qui était attendu en considérant la polarité des solvants. Ceci est probablement lié au ralentissement global de la réaction dans le chloroforme lié d'une part à la plus faible solubilité du nucléophile et, d'autre part, à une température de réaction inférieure ($E_b(\text{CHCl}_3) = 61^\circ\text{C}$ au lieu de $E_b(\text{CH}_3\text{CN}) = 82^\circ$). Tous paramètres étant égaux par ailleurs, l'utilisation d'un solvant protique comme l'éthanol favorise la bisubstitution. Le rendement est de 55%.
- L'influence du nombre d'équivalents de base et de tacn a également été examinée (Tableau II. 1, N° 11 à 19). L'augmentation de la quantité de base déplace l'équilibre jusqu'à atteindre un rendement maximal en bisubstitué pour 7.5 équivalents de $i\text{Pr}_2\text{NEt}$. Tous paramètres étant égaux par ailleurs, les quantités de tacn ajoutées modifient la répartition statistique des produits de substitution. Le rendement de bi-substitution est maximal lorsque le dérivé chloré et le tacn sont ajoutés dans les proportions stoechiométriques 1 : 1.
- La concentration du milieu réactionnel a également une faible influence sur la sélectivité de la réaction (Tableau II. 1, N° 20 à 23). Alors qu'un milieu très dilué (0.01 M) conduit à un rendement global très faible (57%) et une augmentation des produits de dégradation due à un temps de réaction plus long, de faibles variations du rendement global de la synthèse sont

observées à des concentrations de 0.05 M à 0.5 M, pour lesquelles il est voisin de 85% environ. Toutefois, le rendement de bisubstitution est d'autant plus important que le milieu est concentré : la formation du dérivé bi-substitué est favorisée par rapport à celle du mono-substitué.

Finalement, nous avons montré que l'intermédiaire I (ou dérivé **4a**) peut être obtenu de manière reproductible avec un rendement de 62% par substitution nucléophile du dérivé chloré **3** (1 équivalent) sur 2 équivalents de tacn.3HCl, en présence de 7.5 équivalents de diisopropyléthylamine dans l'éthanol à reflux (à une concentration de 0.5 M). Un mélange de produits mono- (5%), bi- (62%) et tri-substitués (18%) est obtenu (Figure II. 17). Les trois produits sont séparés facilement par chromatographie sur colonne d'alumine.

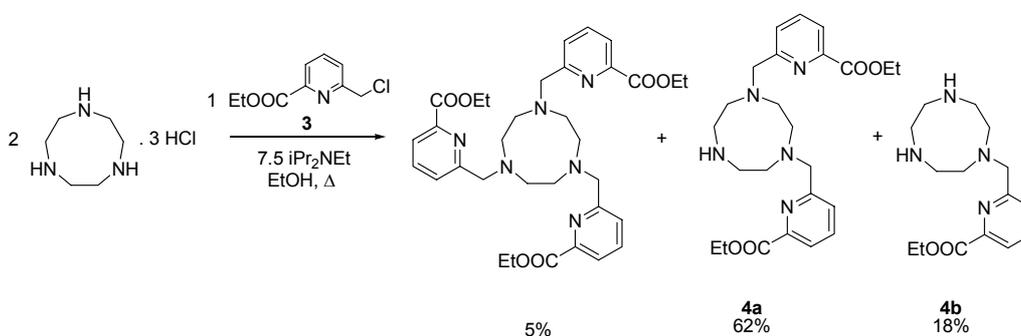


Figure II. 17 : Synthèse des dérivés bi- (**4a**) et mono-substitués (**4b**) à partir du tacn. 3HCl.

Des préparations sur une échelle de 100 mg à 1g de produit final ont été réalisées. Les rendements obtenus sont reproductibles. Notons que l'excès de triazacyclononane est recyclé. L'amine n'ayant pas réagi est précipitée dans le dichlorométhane et séparée par filtration. Après réaction avec une solution aqueuse d'HCl 1M, on obtient à nouveau le produit de départ tacn. 3 HCl.

II.1.3. Synthèse et caractérisation des ligands H₃bpatcn, H₃ebpatcn, H₄pbpatcn et H₃mpatcn

- Ligand H₃bpatcn

La substitution nucléophile, en milieu anhydre, du chloroacétate d'éthyle sur le composé **4a** en présence de K₂CO₃ comme base, dans l'acétonitrile, permet d'obtenir le triester **5** avec un rendement de 56%. Après saponification des esters dans une solution eau/éthanol de KOH, le ligand H₃bpatcn est obtenu avec un rendement de 71% par cristallisation dans l'eau à pH 1.5 (Figure II. 18).

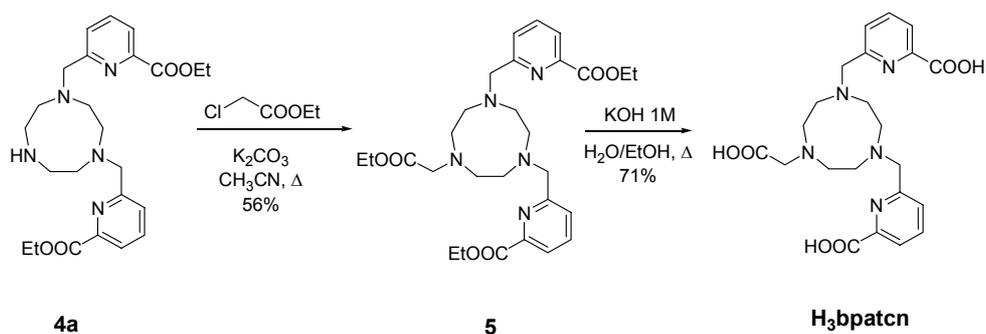


Figure II. 18 : Synthèse du ligand H₃bpatcn.

Le spectre RMN ¹H du ligand H₃bpatcn dans D₂O, à 25°C et à pD = 4.2 ne présente que huit résonances. Les protons éthyléniques du triazacyclononane apparaissent sous la forme de trois singulets larges (δ = 3.33, 3.41 et 3.54 ppm). Les protons CH₂ du groupement acétique apparaissent sous la forme d'un singulet à 3.81 ppm. De même, les protons CH₂ en α du groupement acide picolinique donnent lieu à un singulet à 4.34 ppm. Les protons de la pyridine donnent naissance à deux doublets (δ = 7.54 et 7.76 ppm) et à un triplet (δ = 7.94 ppm) (Figure II. 19). Ces observations suggèrent la présence de plusieurs conformères en solution, dont l'échange rapide donne une symétrie moyenne C₂.

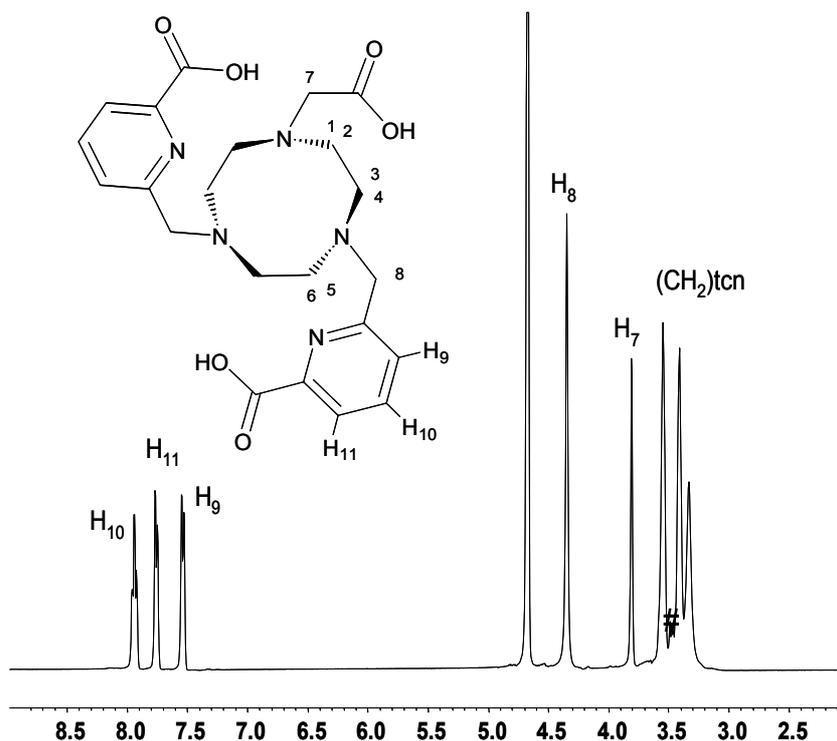


Figure II. 19 : Spectre RMN ¹H, H₃bpatcn, D₂O, 25°C, pD = 4.2
 (#, glycérol provenant de l'électrolyte du pH-mètre).

Des cristaux du ligand sous la forme H₃bpatcn. 2 HCl. 4 H₂O ont été obtenus par lente évaporation d'une solution aqueuse de ligand à pH = 1.5. La structure est présentée Figure II. 20.

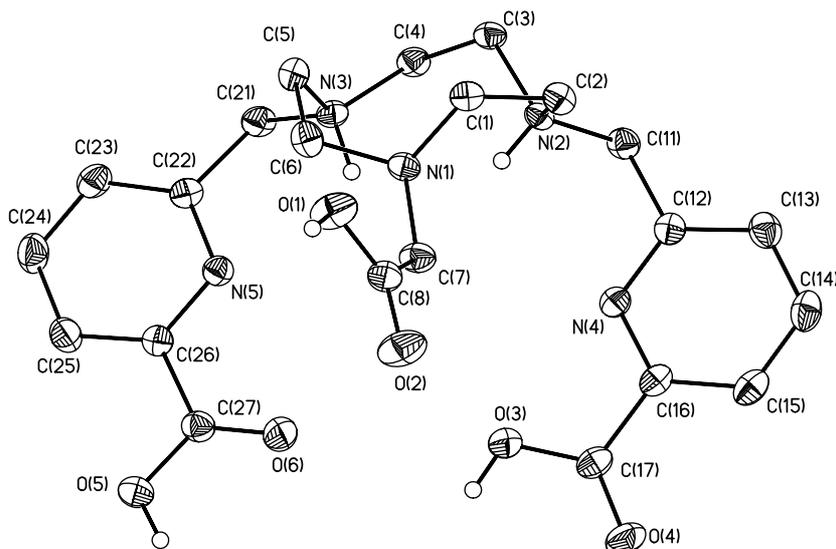
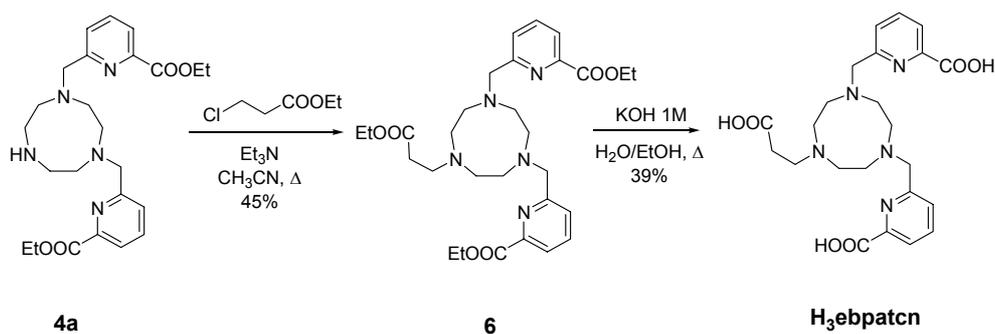


Figure II. 20 : Diagramme ORTEP du ligand $(H_5bpatcn)Cl_2 \cdot H_2O$ (ellipsoïde de probabilité à 30%).

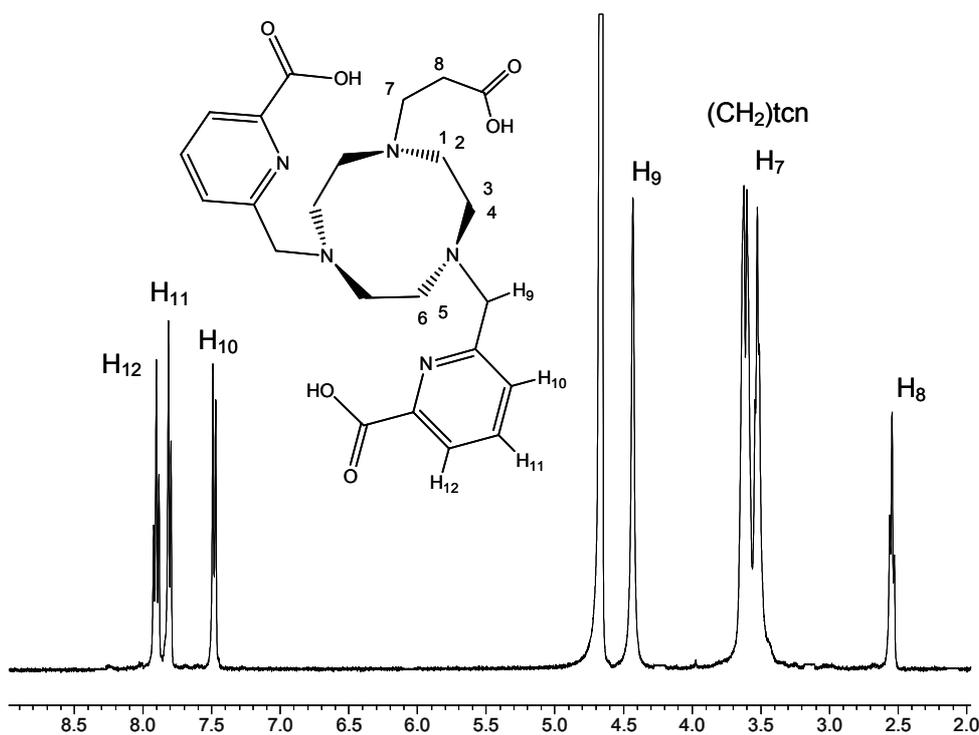
Le composé cristallise avec une molécule d'eau dans le groupe d'espace P-1 du système triclinique. Les trois acides carboxyliques sont protonnés, ainsi que les deux amines du triazacyclononane portant les groupements acide picolinique. Cette observation est en accord avec le résultat des études potentiométriques qui seront présentées au chapitre III (§ I).

- **Ligand $H_3ebpatcn$**

Pour la synthèse du ligand $H_3ebpatcn$, des conditions similaires à celles utilisées pour son analogue $H_3bpatcn$ ont tout d'abord été envisagées en remplaçant uniquement le chloroacétate d'éthyle par le chloropropionate d'éthyle. Cependant, un faible avancement de la réaction a été observé. Nous l'avons associé à une diminution du caractère électrophile du carbone en β de la fonction ester, due à un affaiblissement de l'effet électroattracteur de l'ester par l'augmentation de la longueur de la chaîne carbonée. Une base plus forte a donc été utilisée pour compenser cette baisse de réactivité.^[73] En effet, la même réaction en présence de triéthylamine permet d'obtenir le triester **6** avec un rendement de 45%. La saponification des esters éthyliques conduit au ligand $H_3ebpatcn$ avec un rendement de 39% (Figure II. 21). Au vu de la très forte solubilité du ligand dans l'eau et de la faible quantité mise en jeu (109 mg), celui-ci a été purifié par HPLC (gradient $H_2O/CH_3CN/TFA$) plutôt que par cristallisation.

Figure II. 21 : Synthèse du ligand H₃ebpatcn.

Le spectre RMN ¹H du ligand H₃ebpatcn dans D₂O, à 25°C et à pD = 2.4 présente neuf signaux distincts (Figure II. 22). Les protons éthyléniques du triazacyclononane apparaissent sous la forme d'un singulet ($\delta = 3.57$ ppm) et de deux doublets ($\delta = 3.67$ et 3.71 ppm). Les protons CH₂ en α de l'acide carboxylique se présentent sous la forme d'un triplet ($\delta = 2.68$ ppm) de même que ceux en β ($\delta = 3.64$ ppm). De manière similaire au ligand H₃bpatcn, les protons CH₂ en α du groupement acide picolinique sont équivalents. Ils apparaissent sous la forme d'un singulet à 4.53 ppm. Les protons de la pyridine donnent naissance à deux doublets ($\delta = 7.63$ et 8.06 ppm) et à un triplet ($\delta = 7.95$ ppm). Ce spectre est également en accord avec une symétrie C₂ du ligand en solution.

Figure II. 22 : Spectre RMN ¹H, H₃ebpatcn, D₂O, 25°C, pD = 2.4.

- **Ligand H_4 pbpatcn**

Plusieurs méthodes de fonctionnalisation d'un ligand azoté par un acide phosphorique sont décrites dans la littérature. La synthèse la plus directe consiste en une réaction « one pot » de l'amine avec l'acide phosphorique en présence de paraformaldéhyde dans l'acide chlorhydrique (HCl 6M) à reflux. Cependant la purification, souvent laborieuse, est à l'origine d'une grande disparité dans les rendements obtenus. En effet, si C. Platas-Iglesias et al ont décrit un rendement de 40% pour la synthèse du ligand H_6 bpeda-p (N,N'-bis(6-carboxy-2-pyridylmethyl)ethylenediamine-N,N'-methylenephosphonic acid),^[74] l'équipe de S. Aime n'a obtenu qu'un rendement de 5% pour la synthèse du ligand PCP2A par cette méthode.^[75] Les deux ligands sont représentés Figure II. 23.

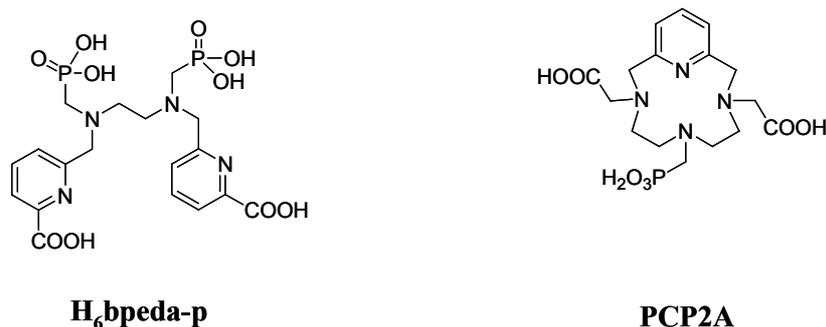
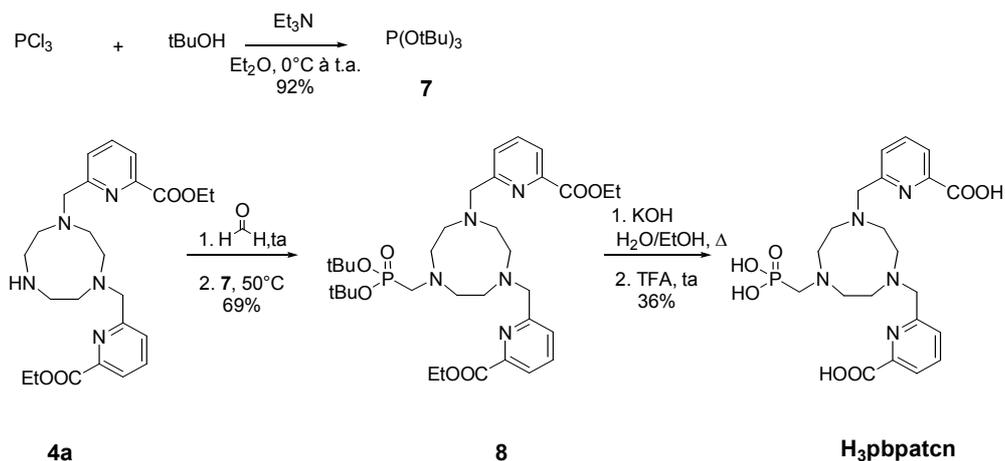


Figure II. 23 : Exemples de ligands phosphorylés.

Un essai de synthèse directe a toutefois été réalisé. Cependant, la méthode a été abandonnée suite aux problèmes rencontrés lors de la purification.

Une alternative consiste à dissocier la synthèse « one pot » préalablement décrite en deux étapes consécutives afin de mieux contrôler la réaction et de faciliter le traitement et la purification. L'ester phosphonique est tout d'abord obtenu par une réaction de Mannich *in situ* entre le ligand azoté et un tri-alkyl phosphite en présence de paraformaldéhyde. La déprotection des esters dans une deuxième étape conduit à l'acide phosphorique souhaité. De nombreuses réactions utilisant le triethyl phosphite commercial ont été reportées.^[76, 77] Cependant, l'équipe de H. C. Manning a montré que l'utilisation du tri-*ter*-butyl phosphite permet de limiter les réactions secondaires et de faciliter la purification.^[78] Nous avons donc privilégié cette méthode.

Le ligand H_3 pbpatcn a été synthétisé à partir de l'amine secondaire **4a** et du tri-*ter*-butyl phosphite **7**, en présence de para-formaldéhyde (Figure II. 24).

Figure II. 24 : Synthèse du ligand H₃pbpatcn.

Le tri-*ter*-butyl phosphite a été préalablement obtenu avec un rendement de 92% selon la procédure décrite par H. C. Manning et al, par réaction du *ter*-butanol sur le trichlorure de phosphore dans l'éther anhydre à 0°C en présence de triéthylamine. Ensuite, le composé **4a** est mélangé à température ambiante avec le paraformaldéhyde dans le THF anhydre. Le sel d'iminium ainsi formé réagit avec le phosphite **7** à 50°C, pour donner l'ester **8** avec un rendement de 69%.

Au vu des difficultés de purification rencontrées lors des synthèses « one pot » (HCl à reflux), nous avons préféré réaliser, pour l'hydrolyse des esters éthyliques et *ter*-butyliques, deux étapes de déprotection successives (conditions plus douces). Les esters éthyliques sont d'abord saponifiés par une solution de potasse dans un mélange H₂O/EtOH à reflux puis le produit brut est ensuite hydrolysé par l'acide trifluoroacétique pur, à température ambiante. Le ligand H₄pbpatcn est obtenu après purification par HPLC avec un rendement de 36%.

Le spectre RMN ¹H du ligand H₃pbpatcn (D₂O, 25°C, pD = 2.2) indique la présence de sept signaux distincts. Les protons éthyléniques du triazacyclononane apparaissent sous la forme de deux singulets larges (δ = 3.71 et 3.88 ppm). Les quatre protons du groupement acide phosphorique se présentent sous la forme d'un doublet (δ = 3.43 ppm), dû à leur couplage avec le phosphore (J = 12.0 Hz). Les quatre protons des CH₂ en α du groupement acide picolinique apparaissent sous la forme d'un singulet à 4.59 ppm. Les protons des pyridines donnent naissance à deux doublets (δ = 7.61 et 7.92 ppm) et à un triplet (δ = 8.01 ppm) (Figure II. 25). Ces résultats sont en accord avec une symétrie C₂.

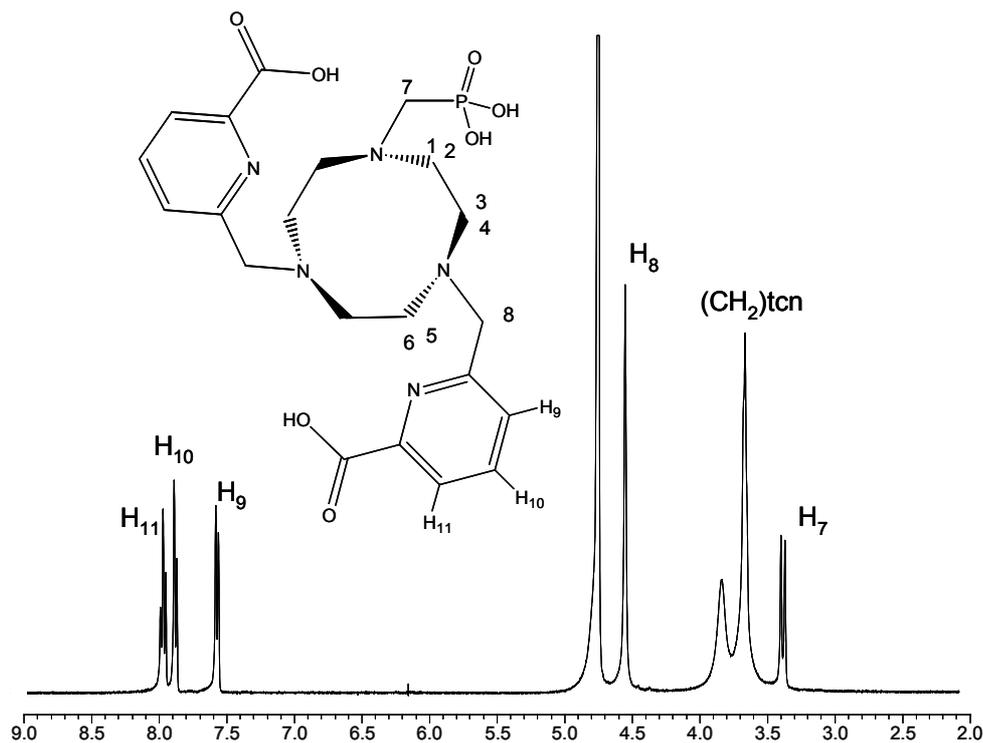


Figure II. 25 : Spectre RMN ^1H , H_3pbatcn , D_2O , 25°C , $\text{pD} = 2.2$.

- Ligand H_3mpatcn

Le ligand H_3mpatcn est obtenu de manière similaire au ligand H_3pbatcn par substitution nucléophile du chloroacétate d'éthyle sur le composé **4b**. Le triester **9** est tout d'abord obtenu avec un rendement de 47%. Ensuite, l'hydrolyse des esters dans une solution aqueuse d' HCl 6M suivie d'une purification par HPLC conduit au ligand H_3mpatcn avec un rendement de 35% (Figure II. 26).

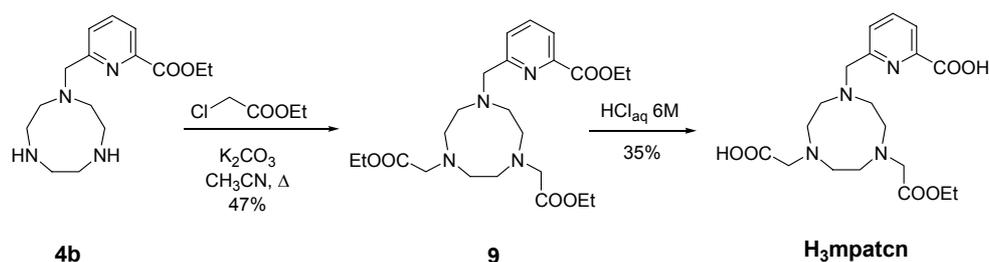


Figure II. 26 : Synthèse du ligand H_3mpatcn .

Huit signaux distincts sont observés sur le spectre RMN ^1H du ligand H_3mpatcn dans D_2O , à 25°C et à $\text{pD} = 2.2$. Les protons éthyléniques du triazacyclononane apparaissent sous la forme de deux multiplets ($\delta = 3.29$ et 3.37 ppm) et d'un singulet fin ($\delta = 3.50$ ppm). Les protons des groupements acide acétique donnent un seul singulet fin ($\delta = 3.93$ ppm). Les quatre protons CH_2 en α du groupement acide picolinique forment un singulet à 4.51 ppm. Les protons de la pyridine donnent

naissance à deux doublets ($\delta = 7.97$ et 8.25 ppm) et à un triplet ($\delta = 8.31$ ppm) (Figure II. 27). Ce spectre est également en accord avec une symétrie C_2 du ligand en solution.

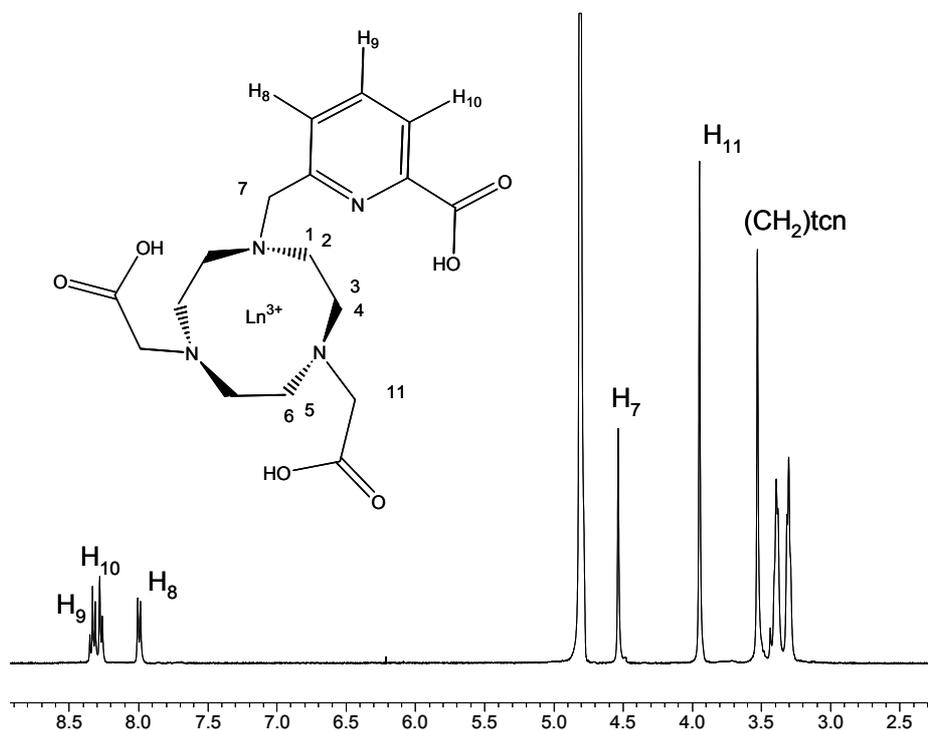
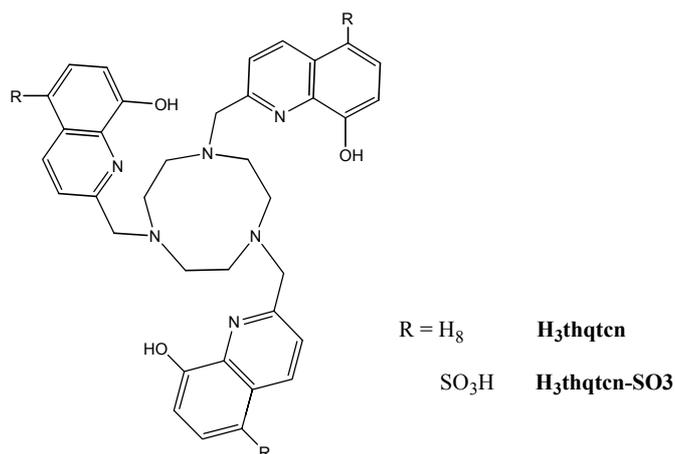


Figure II. 27 : Spectre RMN ^1H , H_3mpatcn , D_2O , 25°C , $\text{pD} = 2.2$.

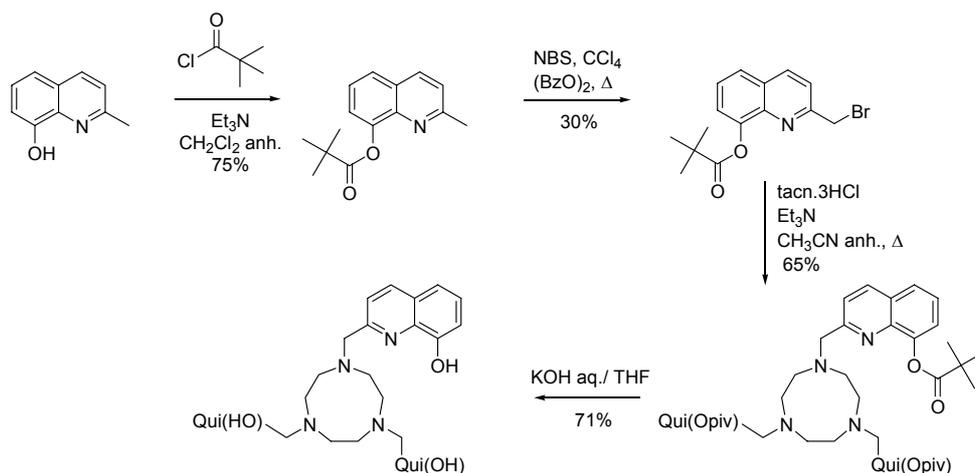
II.2. Synthèse et caractérisation des ligands à motif hydroxyquinoléine

L'étude de l'influence de l'hétérocycle sur la structure des complexes de $\text{Ln}(\text{III})$ avec des ligands dérivés du 1,4,7-triazacyclononane et sur leurs propriétés a également été envisagée. En effet, alors que les acides picoliniques sont efficaces pour la sensibilisation des métaux émettant dans le visible, l'utilisation de motifs hydroxyquinoléine devrait nous permettre d'accéder à des composés luminescents émettant dans l'infrarouge. Ainsi, nous nous sommes intéressés à synthétiser le ligand H_3thqtcn et son dérivé $\text{H}_3\text{thqtcn-SO}_3$, analogues du ligand H_3tpatcn pour lesquels le groupement aromatique hydroxyquinoléine remplace le picolinate (Figure II. 28). Leurs synthèses et leurs études structurales en solution sont présentées ci-dessous.

Figure II. 28 : Structure des ligands H₃thqtcn et H₃thqtcn-SO₃.

II.2.1. Synthèse et caractérisation du ligand H₃thqtcn

Le ligand H₃thqtcn a été synthétisé en 4 étapes à partir de la 8-hydroxy-2-méthylquinoléine commerciale selon la procédure décrite par J. P. Cross et P. G. Sammes légèrement modifiée (Figure II. 29).^[79]

Figure II. 29 : Synthèse du ligand H₃thqtcn.

La première étape consiste en la protection du groupement phénol par un ester pivaloïque. Ensuite, une réaction de bromation radicalaire du groupement méthyle par la *N*-bromosuccinimide (NBS) est réalisée. Il faut noter que le choix du groupement protecteur est particulièrement important car l'ester formé doit suffisamment désactiver le cycle aromatique pour empêcher qu'une réaction secondaire de bromation ait lieu sur le cycle. Le dérivé bromé est ensuite condensé sur le tacn en présence de triéthylamine. Pour finir, l'ester pivaloïque est déprotégé. Cette étape, décrite par les mêmes auteurs, fait intervenir une réduction avec l'hydrure de lithium et d'aluminium dans le THF. Cependant, elle n'a pu être reproduite avec un bon rendement. L'ester pivaloïque a donc été saponifié selon une méthode plus « classique » utilisant KOH dans le THF.^[80] Le rendement de la déprotection a été amélioré : 71% au lieu de 57% initialement obtenu par les auteurs.

Le spectre RMN ^1H du ligand H_3thqtcn dans D_2O , à 25°C et à $\text{pD} = 8.3$ présente sept résonances. Les douze protons éthyléniques du triazacyclononane sont tous équivalents. Ils apparaissent sous la forme d'un seul singulet ($\delta = 3.55$). Les protons CH_2 en α du cycle hydroxyquinoléine donnent un singulet à 4.60 ppm, ils sont rendus équivalents par la libre rotation du noyau aromatique autour de la liaison C-N. Les protons de l'hydroxyquinoléine donnent naissance à quatre doublets ($\delta = 6.81, 7.18, 7.44$ et 8.15 ppm) et à un triplet mal résolu ($\delta = 7.25$ ppm) (Figure II. 30). Ce spectre est caractéristique d'une symétrie C_{3v} en solution, pour laquelle les trois bras sont équivalents.

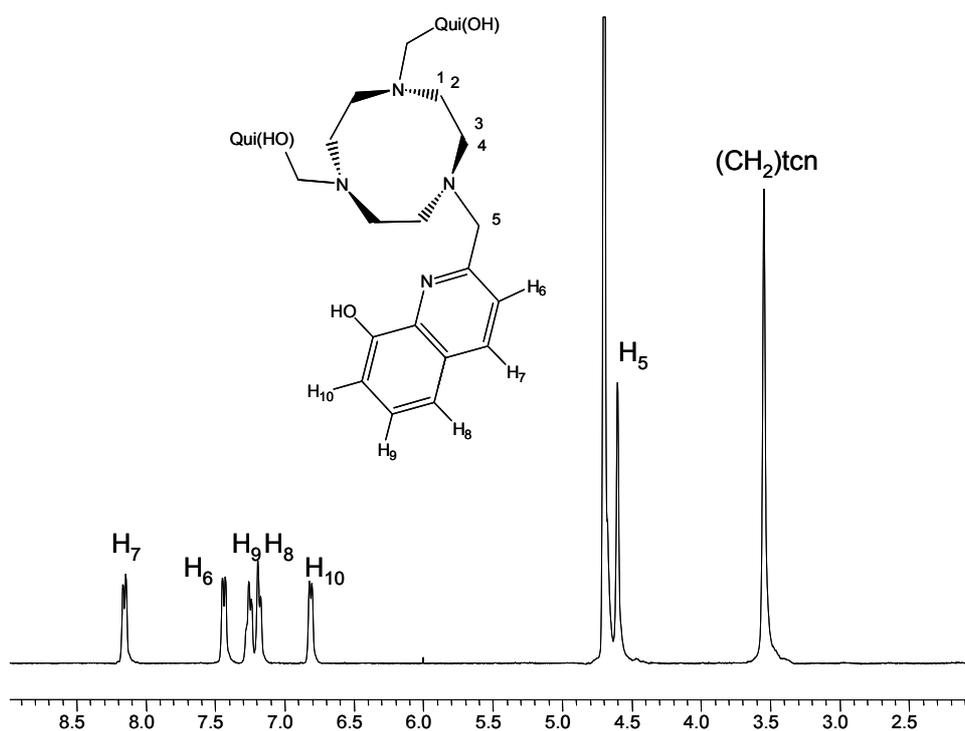


Figure II. 30 : Spectre RMN ^1H , H_3thqtcn , D_2O , 25°C , $\text{pD} = 8.3$.

II.2.2. Synthèse et caractérisation du ligand $\text{H}_6\text{thqtcn-SO}_3$

Le principal inconvénient des groupements hydroxyquinoléine est lié à leur caractère hydrophobe. En effet, les complexes de $\text{Ln}(\text{III})$ correspondants sont rarement solubles en milieu aqueux.^[81] L'introduction de groupements sulfonate sur le ligand devrait assurer une bonne solubilité des complexes dans l'eau. En effet, contrairement aux complexes de $[\text{Ln}(\text{thqtcn})]$ qui sont neutres, les complexes obtenus avec le ligand $\text{H}_6\text{thqtcn-SO}_3$ sont chargés négativement. Cette méthode a récemment été utilisée par Comby et al.^[82] La réaction de sulfonation a lieu dans l'oléum (H_2SO_4 , SO_3 20%). Elle est orientée par le groupement phénol et parfaitement régiosélective.

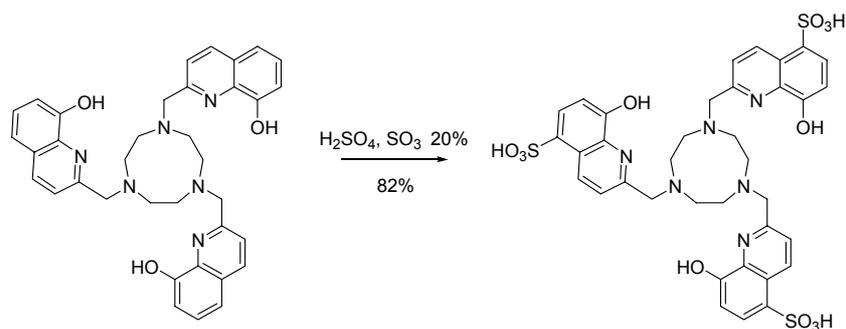


Figure II. 31 : Synthèse du ligand $H_6thqtcn-SO_3$.

Le ligand $H_6thqtcn-SO_3$ a donc été synthétisé de manière similaire à partir du ligand $H_3thqtcn$ et est obtenu avec un rendement de 82% par précipitation dans l'éthanol (Figure II. 31).

Son spectre RMN 1H (D_2O , $25^\circ C$, $pD = 8.3$) ne présente que six résonances : un singulet ($\delta = 2.95$) appartient aux douze protons du triazacyclononane ; un autre, à 3.85 ppm, correspond aux protons éthyléniques porteurs de l'hydroxyquinoléine pour laquelle un set de quatre doublets est observé ($\delta = 6.66, 7.60, 7.72$ et 8.75 ppm) (Figure II. 32). Ainsi, le ligand $H_6thqtcn-SO_3$ possède également une symétrie C_{3v} en solution.

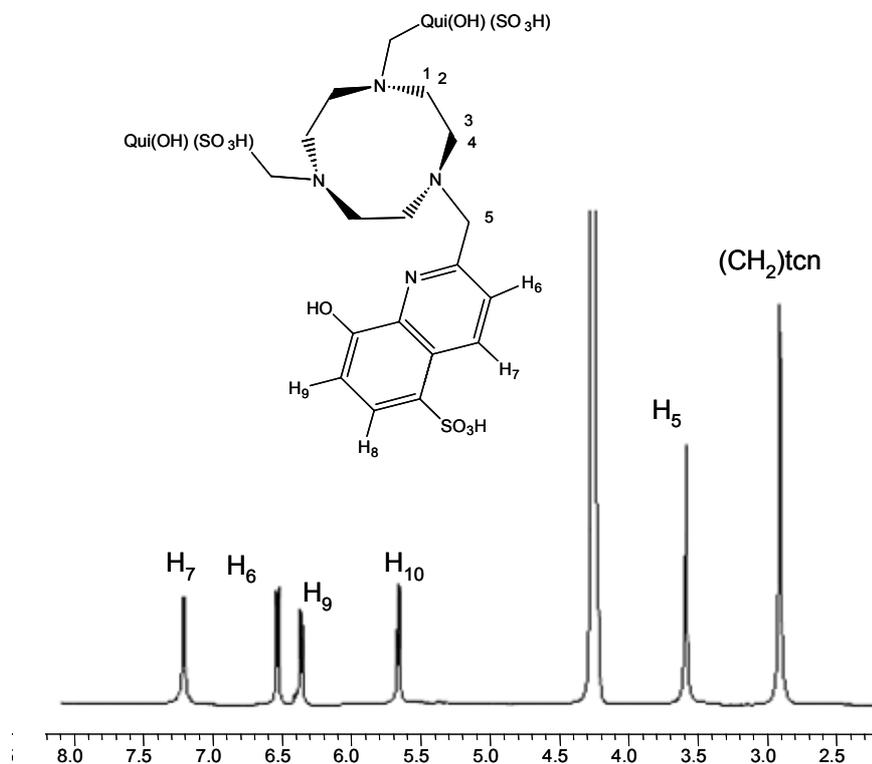


Figure II. 32 : Spectre RMN 1H , $H_6thqtcn-SO_3$, D_2O , $25^\circ C$, $pD = 8.3$.

III. Ligands tripodes à pivot amine centrale

Comme vue en introduction, des ligands tripodes pour lesquels les fonctions coordinantes sont branchées sur un atome d'azote central ont également été synthétisés. Ces composés sont dérivés du ligand H₃tpaa dont la relaxivité du complexe de Gd(III) est particulièrement élevée mais la solubilité dans l'eau faible. L'incorporation de groupement acétate devrait permettre d'améliorer sensiblement la solubilité des complexes dans l'eau. Les différents ligands sont représentés Figure II. 33.

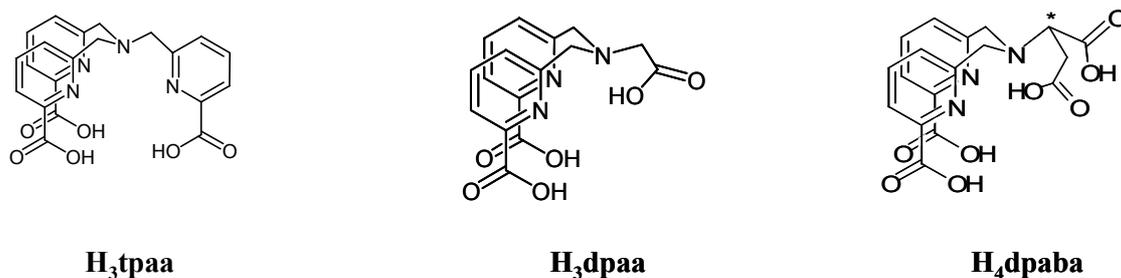


Figure II. 33 : Structure des ligands tripodes étudiés.

III.1. Synthèse et caractérisation du ligand H₃dpaa

La substitution nucléophile, en milieu anhydre, du dérivé chloré **3** sur l'ester éthylique de la glycine, en présence de K₂CO₃ et de KI dans l'acétonitrile, permet d'obtenir le triester **13** avec un rendement de 58%.^[27] L'hydrolyse acide des esters par une solution aqueuse d'HCl 6M donne, après cristallisation dans l'eau, le ligand H₃dpaa avec un rendement de 59% (Figure II. 34).

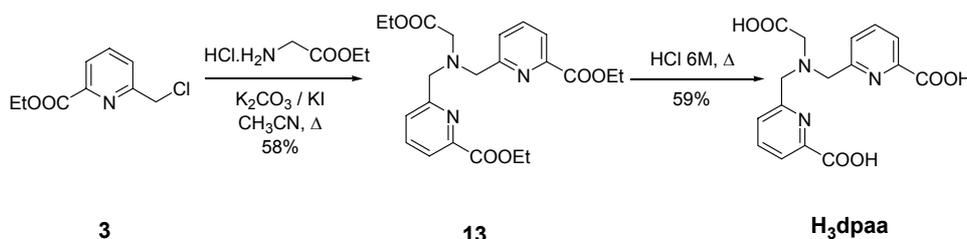


Figure II. 34 : Synthèse du ligand H₃dpaa.

Le spectre RMN ¹H du ligand H₃dpaa dans D₂O, à 25°C et à pD = 4.7 ne présente que cinq résonances. Les protons CH₂ du groupement acide acétique apparaissent sous la forme d'un singulet (δ = 3.94), tout comme ceux en α de l'acide picolinique (δ = 4.60). Les protons des pyridines donnent lieu à deux doublets (δ = 7.43 et 7.76 ppm) et à un triplet (δ = 7.76 ppm) (Figure II. 32). Ce motif est en accord avec une symétrie C₂ du ligand en solution.

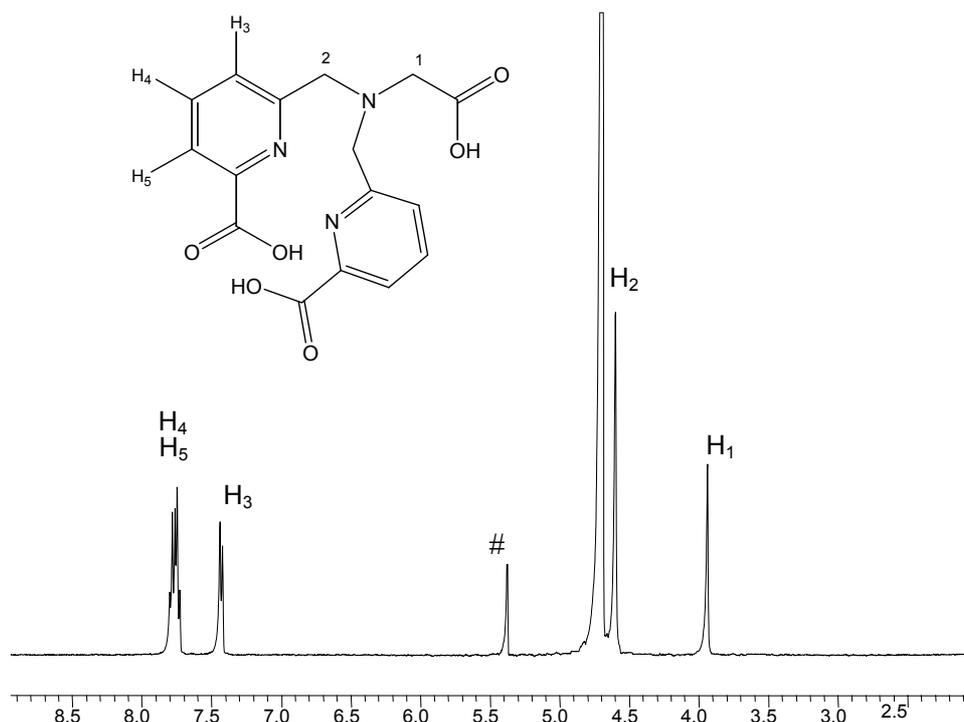


Figure 3. 1 : Spectre RMN ^1H , H_3dpaa , D_2O , 25°C , $\text{pD} = 4.7$.
 (# résidu de CH_2Cl_2)

III.2. Synthèse et caractérisation du ligand H_4dpaba

De la même façon, la réaction du dérivé chloré **3** sur l'ester méthylique de l'acide L-aspartique permet d'obtenir l'ester **14** avec un rendement de 78%.

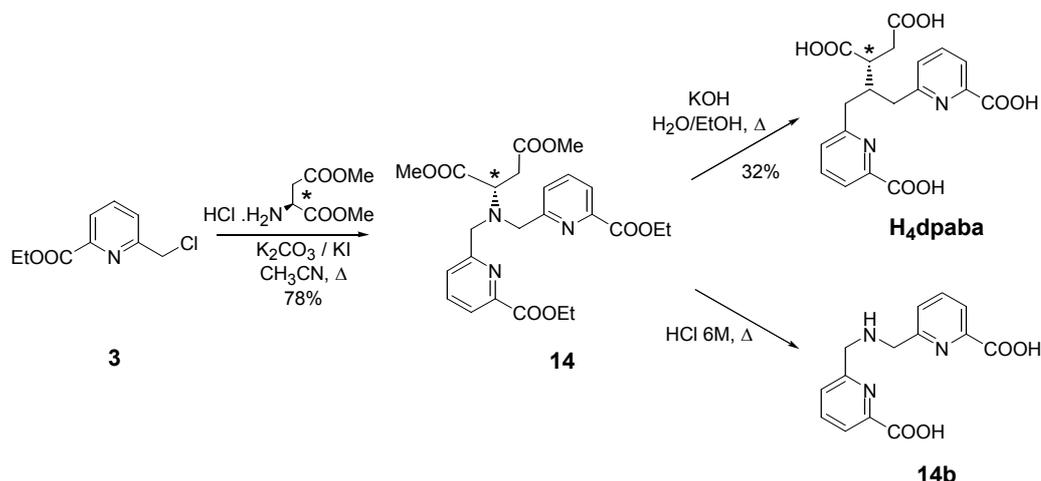


Figure II. 35 : Synthèse du ligand H_4dpaba .

L'hydrolyse acide des esters par une solution aqueuse d'HCl 6M à reflux a conduit à l'obtention de l'amine **14b**. Ceci est vraisemblablement lié à une réaction d'élimination d'acide butène dioïque catalysée en milieu acide.

Nous avons donc réalisé la saponification des fonctions ester par KOH dans une mélange H₂O/EtOH à reflux. Par cette méthode, le ligand H₄dpaba est obtenu après cristallisation dans l'eau (pH 1.6), avec un rendement de 32% (Figure II. 35).

Le spectre RMN ¹H du ligand H₄dpaba dans D₂O, à 25°C et à pD = 2.0 présente sept résonances. Les protons CH₂ en α de l'acide carboxylique apparaissent sous la forme d'un doublet (δ = 2.67). Le proton du carbone asymétrique donne un triplet à 3.79 ppm. Dû à la présence du carbone asymétrique, les protons en α des groupements pyridiniques sont diastéréotopiques. Ils apparaissent sous la forme d'un système AB (δ_A = 3.95, δ_B = 4.08 ppm). Les protons des pyridines donnent deux doublets (δ = 7.55 et 7.59 ppm) et un triplet (δ = 7.67 ppm) (Figure II. 36). Ces résultats indiquent que le ligand possède une symétrie moyenne C₂ en solution.

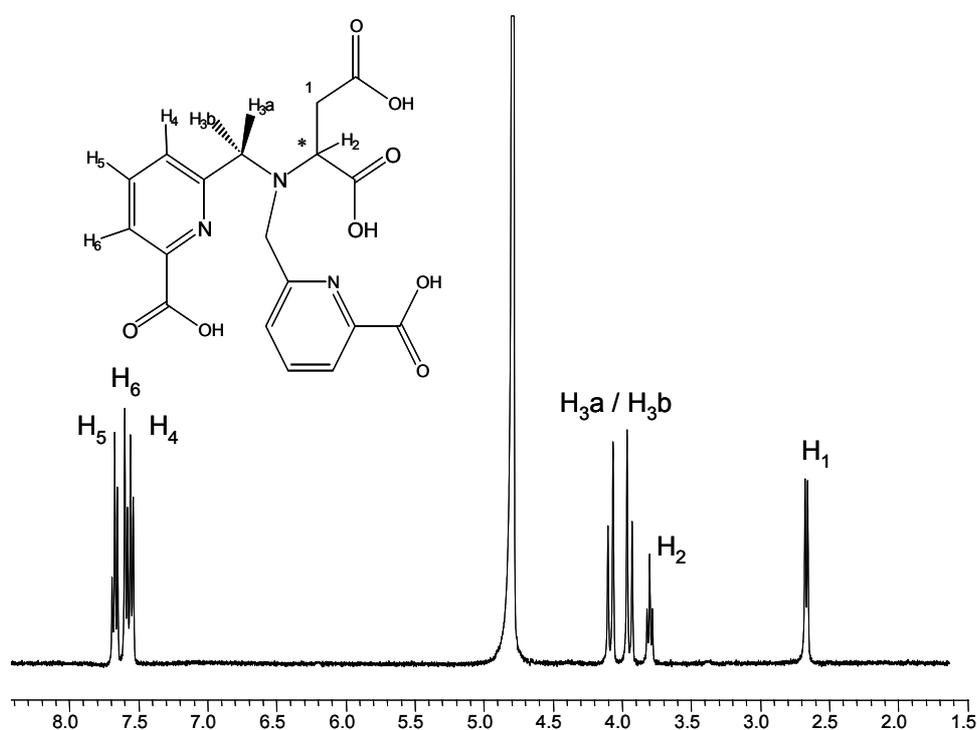


Figure II. 36 : Spectre RMN ¹H, H₄dpaba, D₂O, 25°C, pD = 2.0.

En conclusion, deux séries de ligands tripodes ont été synthétisées. La présentation des propriétés de stabilité, de relaxivité et de luminescence de leurs complexes de lanthanides(III) associés font l'objet des chapitres suivants.

Bibliographie

- [1] J.-M. Lehn, *Supramolecular Chemistry-Concepts and Perspectives*, VCH, Weinheim, **1995**.
- [2] G. R. Choppin, in *Chapter 1 : Chemical Properties of Rare Earths Elements*, Elsevier ed., J. C. Bünzli and G. R. Choppin, **1989**, pp. 1.
- [3] N. Sabbatini, M. Guardigli, J.-M. Lehn, *Coord. Chem. Rev.* **1993**, *123*, 201.
- [4] J. C. Bünzli, in *Chapter 7 : Luminescent Probes*, Elsevier ed., J. C. Bünzli and G. R. Choppin, **1989**, pp. 219.
- [5] G. Mathis, *Clin. Chem.* **1995**, *41*, 1391.
- [6] J. Koshland, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1994**, *33*, 2375.
- [7] C. Piguet, J.-C. G. Bünzli, *Chem. Soc. Rev.* **1999**, *28*, 347.
- [8] P. Caravan, *Chem. Soc. Rev.* **2006**, *35*, 512.
- [9] D. Parker, J. A. G. Williams, *The Lanthanides and Their Interrelation with Biosystems, Vol. 40*, Marcel Dekker, Inc., New York, **2003**.
- [10] J. C. G. Bünzli, C. Piguet, *Chem. Soc. Rev.* **2005**, *34*, 1048.
- [11] M. Elhabiri, R. Scopelliti, J.-C. Bünzli, C. Piguet, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 10747.
- [12] C. Piguet, J.-C. G. Bünzli, G. Bernardinelli, G. Hopfgartner, A. F. Williams, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 8197.
- [13] D. Imbert, M. Cantuel, J. C. G. Bünzli, G. Bernardinelli, C. Piguet, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 15698.
- [14] S. Aime, M. Botta, M. Fasano, S. Paoletti, P. L. Anelli, F. Uggeri, M. Virtuani, *Inorg. Chem.* **1994**, *33*, 4707.
- [15] J. Xu, S. J. Franklin, D. W. Whisenhunt, Jr, K. N. Raymond, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 7245.
- [16] S. Blanc, P. Yakirevitch, E. Leize, M. Meyer, J. Libman, A. V. Dorsselaer, A. M. Albrecht-Gary, A. Shanzer, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 4934.
- [17] A. M. Dittler-Klingermann, F. E. Hahn, *Inorg. Chem.* **1996**, *35*, 1996.
- [18] G. Serratrice, H. Boukhalifa, C. Béguin, P. Baret, C. Caris, J. L. Pierre, *Inorg. Chem.* **1997**, *36*, 3898.
- [19] T. R. Ward, A. Lutz, S. P. Parel, J. Ensling, P. Gütllich, P. Buglyo, C. Orvig, *Inorg. Chem.* **1999**, *38*, 840.
- [20] S. Hajela, M. Botta, S. Giraud, J. Xu, K. N. Raymond, S. Aime, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 11228.
- [21] F. Renaud, C. Piguet, G. Bernardinelli, J. C. Bünzli, G. Hopfgartner, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 9326.
- [22] N. Kitajima, Y. Moro-oka, *Chem. Rev.* **1994**, *94*, 737.

- [23] K. D. Karlin, A. D. Zuberbühler, Marcel Dekker ed. (Eds.: J. Reedijk, E. Bouwman), New York, **1999**, pp. 469.
- [24] M. Fontecave, S. Ménage, C. Duboc-Toia, *Coord. Chem. Rev.* **1998**, 178-180, 1555.
- [25] G. Anderegg, F. Wenk, *Helv. Chim. Acta* **1967**, 50, 2330.
- [26] R. Wietzke, M. Mazzanti, J. M. Latour, J. Pécaut, P. Y. Cordier, C. Madic, *Inorg. Chem.* **1998**, 37.
- [27] Y. Bretonnière, M. Mazzanti, J. Pécaut, F. A. Dunand, A. E. Merbach, *Inorg. Chem.* **2001**, 40, 6737.
- [28] K. P. Wainwright, *Coord. Chem. Rev.* **1997**, 166, 35.
- [29] P. Chaudhuri, K. Wieghardt, *Progr. Inorg. Chem.* **1987**, 25, 329.
- [30] K. Wieghardt, E. Schoffmann, B. Nuber, J. Weiss, *Inorg. Chem.* **1986**, 25, 4877.
- [31] L. Christiansen, D. N. Hendrickson, H. Toftlund, S. R. Wilson, C. L. Xie, *Inorg. Chem.* **1986**, 25, 2813.
- [32] G. A. McLachlan, G. D. Fallon, R. L. Martin, B. Moubarak, K. Murra, L. Spiccia, *Inorg. Chem.* **1994**, 33, 4663.
- [33] C. Gateau, M. Mazzanti, J. Pécaut, F. A. Dunand, L. Helm, *Dalton. Trans.* **2003**, 12, 2428.
- [34] N. Chatterton, C. Gateau, M. Mazzanti, J. Pécaut, A. Borel, L. Helm, A. Merbach, *Dalton. Trans* **2005**, 1129.
- [35] N. Chatterton, Y. Bretonnière, J. Pécaut, M. Mazzanti, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, 44, 7595.
- [36] A. C. Warden, B. Graham, M. T. W. Hearn, L. Spiccia, *Org. Lett.* **2001**, 3, 2855.
- [37] J. E. Richman, T. J. Atkins, *J. Am. Chem. Soc.* **1974**, 96, 2268.
- [38] D. Parker, in *Macrocyclic Synthesis*, Oxford Univ. Press, **1996**.
- [39] S. Pulacchini, M. Watkinson, *Tet. Lett.* **1999**, 40, 9363.
- [40] J. L. Sessler, J. W. Silbert, V. Lynch, *Inorg. Chem.* **1990**, 29, 4143.
- [41] I. Lazar, Z. Takacs, *Synth. Commun.* **2001**, 31, 3141.
- [42] A. J. Dickie, D. C. R. Hockless, A. C. Willis, J. A. McKeon, W. G. Jackson, *Inorg. Chem.* **2003**, 42, 3833.
- [43] L. Tei, A. Bencini, A. J. Blake, V. Lippolis, A. Perra, B. Valtancoli, C. Wilson, M. Schröder, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **2004**, 1934.
- [44] T. Wang, Z. Zhang, N. A. Meanwell, *J. Org. Chem.* **1999**, 64, 7661.
- [45] Z. Kovaks, D. Sherry, *Tet. Lett.* **1995**, 36, 9269.
- [46] S. Kimura, E. Bill, E. Bothe, T. Weyhermüller, K. Wieghardt, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 6025.
- [47] M. Tamura, Y. Urano, K. Kikuchi, T. Higuchi, M. Hirobe, T. Nagano, *J. Organomet. Chem.* **2000**, 611, 586.
- [48] P. Rossi, F. Felluga, P. Scrimin, *Tet. Lett.* **1998**, 39, 7159.
- [49] W. Yang, C. M. Giandomenico, M. S. Sartori, D. Moore, *Tet. Lett.* **2003**, 44, 2481.

- [50] J. M. Erhardt, J. D. Wuest, *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 6364.
- [51] G. R. Weisman, D. J. Vachon, V. B. Johnson, D. A. Gronbeck, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1987**, 886.
- [52] P. C. McGowan, T. J. Podesta, M. Thornton-Pett, *Inorg. Chem.* **2001**, *40*, 1445.
- [53] A. J. Blake, I. A. Fallis, R. O. Gould, S. Parsons, S. A. Ross, M. Schröder, *J. Chem. Soc., Dalton. Trans.* **1996**, 4379.
- [54] L. J. Farrugia, P. A. Lovatt, R. D. Peacock, *Inorg. Chim. Acta* **1996**, *246*, 343.
- [55] D. Ellis, L. J. Farrugia, R. D. Peacock, *Polyhedron* **1999**, *18*, 1229.
- [56] C. Stockheim, L. Hoster, T. Weyhermüller, K. Wieghardt, B. Nuber, *Dalton. Trans* **1996**, 4409.
- [57] D. Schulz, T. Weyhermüller, K. Wieghardt, B. Nuber, *Inorg. Chim. Acta* **1995**, 217.
- [58] A. R. Battle, L. Spiccia, *Tetrahedron* **2005**, *61*, 7499.
- [59] L. Rossa, F. Vogtle, *Top. Curr. Chem.* **1983**, *113*, 1.
- [60] D. A. Laidler, J. F. Stoddart, *The Chemistry of Functional Groups, Vol. Suppl. E, Part 1*, Wiley ed., S. Patai, New York, **1980**.
- [61] G. Argouarch, C. L. Gibson, G. Stones, D. C. Sherrington, *Tet. Lett.* **2002**, *43*, 3795.
- [62] J. E. W. Scheuermann, F. Ronketti, M. Motevalli, D. V. Griffiths, M. Watkinson, *New. J. Chem.* **2002**, *26*, 1054.
- [63] J. E. W. Scheuermann, K. F. Sibbons, D. M. Benoit, M. Motevalli, M. Watkinson, *Org. Biomol. Chem.* **2004**, *2*, 2664.
- [64] H. Chong, M. W. Brechbiel, *Synth. Commun.* **2003**, *33*, 1147.
- [65] H. Chong, K. Garmestani, D. Ma, D. E. Milenic, T. Overstreet, M. W. Brechbiel, *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 3458.
- [66] S. Pulacchini, M. Watkinson, *Eur. J. Org. Chem* **2001**, 4233.
- [67] J. S. Bradshaw, K. E. Krakowiak, R. M. Izatt, *Tet. Lett.* **1989**, *30*, 803.
- [68] A. Grenz, S. Ceccarelli, C. Bolm, *Chem. Commun.* **2001**, 1726.
- [69] J. P. L. Cox, A. S. Craig, I. M. Helps, K. J. Jankowski, D. Parker, M. A. W. Eaton, A. T. Millican, K. Millar, N. R. A. Beeley, B. A. Boyce, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1990**, 2567.
- [70] C. M. Hartshorn, J. R. Deschamps, A. Singh, E. L. Chang, *Reactive & Functionnal Polymers* **2003**, *55*, 219.
- [71] Q. X. Li, Q. H. Luo, Y. Z. Li, C. Y. Duan, Q. Y. Tu, *Inorg. Chim. Acta* **2005**, *358*, 504.
- [72] J. Huskens, A. D. Sherry, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 4396.
- [73] H. Tsukube, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1989**, 89.
- [74] M. Mato-Iglesias, C. Platas-Iglesias, K. Djanashvili, J. A. Peters, V. Toth, E. Balogh, R. N. Muller, L. V. Elst, A. de Blas, T. Rodriguez-Blas, *Chem. Commun.* **2005**, 4729.
- [75] S. Aime, M. Botta, L. Frullano, S. C. Crich, G. Giovenzana, R. Pagliarin, G. Palmisano, F. R. Sirtori, M. Sisti, *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 4017.

- [76] X. Li, S. Zhang, P. Zhao, Z. Kovacs, A. D. Sherry, *Inorg. Chem.* **2001**, *40*, 6572.
- [77] P. Lebduskova, P. Hermann, L. Helm, E. Toth, J. Kotek, K. Binnemans, J. Rudovsky, I. Lukes, A. E. Merbach, *Dalton Trans.* **2007**, 493.
- [78] H. C. Manning, M. Bai, B. M. Anderson, R. Lisiak, L. E. Samuelson, D. J. Bornhop, *Tet. Lett.* **2005**, *46*, 4707.
- [79] J. P. Cross, P. G. Sammes, *J. Chem. Research (S)* **2003**, 704.
- [80] H. Hocke, Y. Uozumi, *Tetrahedron* **2003**, *59*, 619.
- [81] D. Imbert, S. Comby, A.-S. Chauvin, J.-C. Bünzli, *Chem. Commun.* **2005**, 1432.
- [82] S. Comby, D. Imbert, C. Vandevyver, J. C. Bünzli, *Chem. Eur. J.* **2007**, *13*, 936.

III – Sondes magnétiques

I. Chélates de Gd(III) mono-aqua	109
I.1. Synthèse des complexes	111
I.2. Etudes structurales en solution	112
I.2.1. Etudes par RMN ^1H	112
I.2.2. Détermination du nombre de molécules d'eau coordonnées	123
I.2.3. Protonation des ligands et stabilité des complexes	124
I.3. Etude de la relaxivité	134
I.3.1. Relaxivité du complexe $[\text{Gd}(\text{bpatcn})(\text{H}_2\text{O})]$	134
I.3.2. Relaxivité des complexes $[\text{Gd}(\text{ebpatcn})(\text{H}_2\text{O})]$ et $[\text{Gd}(\text{pbpatcn})(\text{H}_2\text{O})]^-$	141
II. Chélates de Gd(III) bis- et tris-aqua	148
II.1. Synthèse et structure des complexes à l'état solide	151
II.1.1. Complexe de Gd(III) avec le ligand dpaa^{3-}	151
II.1.2. Complexe de Lu(III) avec le ligand dpaa^{3-}	154
II.2. Etudes structurales en solution	155
II.2.1. Etudes par RMN ^1H	155
II.2.2. Détermination du nombre de molécules d'eau coordonnées	158
II.2.3. Protonation des ligands et stabilité des complexes	160
II.3. Etude de la relaxivité	165
II.3.1. Nouvelle méthode de détermination rapide de k_{ex} et τ_{R}	165
II.3.2. Relaxivité des complexes $[\text{Gd}(\text{dpaa})(\text{H}_2\text{O})_3]$, $[\text{Gd}(\text{dpaa})_2(\text{H}_2\text{O})]^{3-}$ et $[\text{Gd}(\text{dpaba})(\text{H}_2\text{O})_2]^-$	167
II.3.3. Relaxivité du complexe $[\text{Gd}(\text{mpatcn})(\text{H}_2\text{O})_2]$	173
II.3.4. Interactions avec les anions endogènes	176
II.3.5. Interaction avec l'albumine sérique	179
II.3.6. Relaxivité dans le sérum	186

I. Chélates de Gd(III) mono-aqua

L'étude de la relaxation électronique des complexes de Gd(III) a longtemps souffert du manque de méthode de détermination adaptée. De ce fait, l'influence de la relaxation électronique sur la relaxivité a été très peu considérée. La relaxation électronique est le principal facteur limitant la relaxivité pour les faibles valeurs de champ (jusqu'à 3 à 4 MHz environ). A des champs supérieurs, ce sont actuellement la vitesse d'échange des molécules d'eau dans la première sphère de coordination du complexe et son temps de corrélation rotationnelle qui limitent la relaxivité d'un système.^[1] De nombreux efforts de recherche ont été développés en vue d'améliorer ces deux paramètres. Ainsi, des complexes macromoléculaires avec une vitesse d'échange élevée commencent à voir le jour. Cependant, leur relaxivité reste en deçà de la relaxivité maximale prédite par la théorie (Figure III. 1).

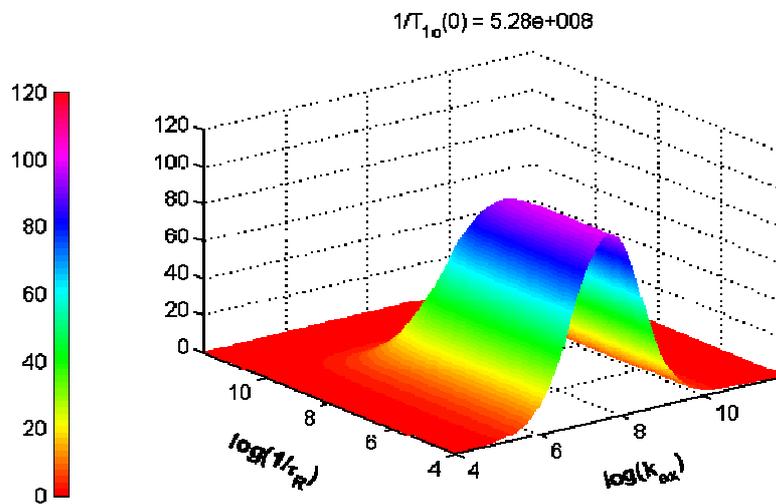


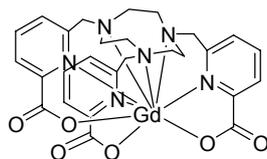
Figure III. 1 : Relaxivité théorique d'un complexe de Gd(III) à 0.5 T dans H₂O en fonction de τ_R et k_{ex} pour $1/\tau_{s0} = 5.28 \cdot 10^8 \text{ s}^{-1}$. Simulation par la théorie SBM, d'après la référence ^[1].

Le complexe P760, de poids moléculaire égal à 5.3 kDa, possède une relaxivité longitudinale de 25 $\text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$. C'est l'une des relaxivités r_1 les plus élevées de la littérature pour un complexe macromoléculaire dans l'eau en l'absence de protéine.^[1, 2] Aussi, ce complexe a largement été étudié d'un point de vue fondamental. Son temps de corrélation rotationnelle a été déterminé par Van der Elst et ses collaborateurs : $\tau_R = 1.7 \text{ ns}$.^[3] Son temps de relaxation électronique à 1.5 T peut être calculé à partir de la description du ZFS donnée par P. H. Fries et E. Belorizky : $T_{1e} = 7 \text{ ns}$.^[4] Or, nous avons vu en introduction que la relaxivité est gouvernée par le temps de corrélation τ_{ci} ($i = 1, 2$) qui dépend de T_{1e} , τ_R et τ_m selon la relation suivante :

$$\frac{1}{\tau_{ci}} = \frac{1}{T_{1e}} + \frac{1}{\tau_R} + \frac{1}{\tau_m} \quad \text{Equation III. 1}$$

Ainsi, dans le cas du P760, l'effet de la relaxation électronique engendre une diminution de la relaxivité de 24 % à 1.5 T, ce qui n'est pas négligeable. Les effets de la relaxation électronique sont d'autant plus importants que le champ est faible (T_{1e} est proportionnel à B_0^2). Typiquement, des valeurs de T_{1e} comprises entre 0.1 ns à bas champ (10^{-4} T) et 10 ns à 2.35 T sont observées. Il est donc indispensable de prendre en compte les effets de la relaxation électronique. D'une part, une bonne description des systèmes à bas champs ne peut être obtenue qu'avec une description précise de la relaxation électronique et d'autre part, les effets du T_{1e} sur la relaxivité ne sont pas négligeables aux champs de l'imagerie utilisés actuellement (0.5 à 1.5 T). En particulier, l'optimisation de la relaxation électronique des agents macromoléculaires de nouvelle génération ne doit pas être négligée. Ainsi, nous nous sommes intéressés à l'étude de l'influence de l'architecture du complexe sur la relaxation électronique. L'optimisation de la relaxation électronique de petits complexes permettra d'accéder à des relaxivités élevées après les avoir greffé sur des entités de plus grosse taille (macromolécules, biomolécules).

Nous avons vu que, pour les complexes de Gd(III), la relaxation électronique est liée à la modulation de la levée de dégénérescence des niveaux électroniques de spin du Gd(III). Celle-ci est due aux fluctuations du champ du ligand, d'une part par la rotation brownienne du complexe dans le repère moléculaire (modulation de ZFS statique) et d'autre part, par les déformations vibrationnelles du complexe (modulation du ZFS transient). Ces deux composantes sont à corrélérer respectivement avec la symétrie du complexe et avec la composition chimique de sa sphère de coordination. En effet, des symétries élevées (C_3 , C_4) annulent certaines composantes statiques. Le complexe [Gd(tpatcn)], de symétrie C_3 (Figure III. 2), possède la relaxation électronique en champ nul la plus lente observée jusqu'ici : $\tau_{s0} = 1500$ ps. Elle se traduit par une relaxivité exceptionnellement élevée aux très faibles valeurs de champs. Cette valeur est à comparer avec $\tau_{s0} \sim 650$ ps pour le complexe [Gd(DOTA)(H₂O)]⁻, de symétrie C_4 .^[5] Des études par RPE, réalisées en collaboration avec le groupe de l'EPF Lausanne, ont montré que la relaxation électronique était également très lente en bande Q : $T_{1e} = 15.6$ ns à 1.2 T au lieu de 7.7 ns pour le complexe de DOTA.^[6] Les deux complexes possédant tous les deux une symétrie élevée, la relaxation lente du [Gd(tpatcn)] a été reliée à la présence d'un grand nombre d'azotes dans le polyèdre de coordination du métal (6 atomes d'azote sur 9 donneurs), à l'origine d'un faible champ du ligand et donc d'une faible contribution du ZFS statique.



[Gd(tpatcn)]

Figure III. 2 : Structure du complexe [Gd(tpatcn)].

En dépit de propriétés de relaxation électronique intéressantes, la relaxivité du $[\text{Gd}(\text{tpatcn})]$, aux champs de l'IRM, est faible. En effet, nous avons déjà vu en introduction que l'absence de molécules d'eau dans sa sphère de coordination limite son intérêt en tant qu'agent de contraste. En vue d'augmenter la relaxivité, le complexe $[\text{Gd}(\text{bpatcn})(\text{H}_2\text{O})]$, dérivés octadente du $[\text{Gd}(\text{tpatcn})]$ a été étudié (Figure III. 3). Nous verrons qu'il possède des propriétés de relaxation électronique intéressantes. Cependant, la vitesse d'échange de sa molécule d'eau en première sphère de coordination est lente et nous a incité à synthétiser d'autres composés d'architectures voisines susceptibles de présenter un échange rapide. Leurs structures sont représentées à la Figure III. 3. Pour chacun des complexes, nous présenterons le résultat des études structurales en solution ainsi que la détermination des constantes de stabilité. Les paramètres dynamiques des complexes influençant leur relaxivité ont également été déterminés.

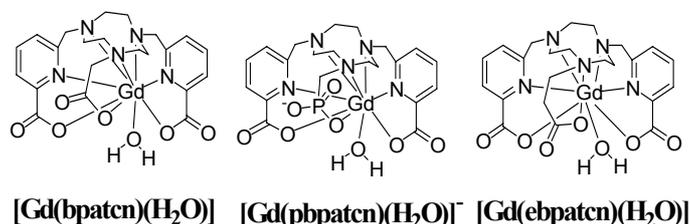


Figure III. 3 : Complexes mono-aqua analogues du $[\text{Gd}(\text{tpatcn})]$ étudiés ici.

Un dérivé bis-aqua a également été étudié (Figure III. 4). Son étude structurale en solution de même que l'étude de sa stabilité seront présentées à titre de comparaison avec les complexes mono-aqua d'architectures analogues. Toutefois, ses propriétés de relaxivité seront présentées dans le chapitre consacré aux complexes bis- et tris-aqua (§ II.).

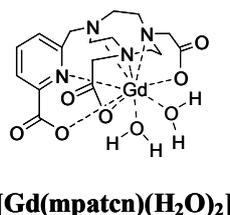


Figure III. 4 : Complexe bis-aqua dérivé du 1,4,7-triazacyclononane.

1.1. Synthèse des complexes

Dans l'eau, les ligands H_3bpatcn , $\text{H}_4\text{pbpatcn}$, $\text{H}_3\text{ebpatcn}$ et H_3mpatcn réagissent avec un équivalent de chlorures (ou de triflates) de lanthanides(III) pour donner, après ajustement du pH avec une solution aqueuse de KOH, des complexes de stœchiométrie 1 : 1. Etant donné que nous nous sommes concentrés sur l'étude des complexes en solution et pour limiter les quantités de ligand utilisées, les complexes ont en général été synthétisés *in situ*.

Seul le complexe [Eu(bpatcn)] a été isolé dans des quantités importantes (67 mg). Il a tout d'abord été formé dans l'eau en mélangeant le ligand H₃bpatcn et le sel EuCl₃.6 H₂O dans des proportions stœchiométriques et en ajustant le pH à 7.5 avec une solution aqueuse de KOH. Après élimination des sels, le complexe a ensuite été repris dans l'éthanol puis isolé sous la forme d'une poudre blanche microcristalline par lente évaporation avec un rendement de 65%.

I.2. Etudes structurales en solution

I.2.1. Etudes par RMN ¹H

- Etude des complexes avec le ligand bpatcn³⁻

Les complexes des ions Ln(III) (Ln = La, Lu, Eu) avec les différents ligands ont été étudiés par RMN ¹H en solution aqueuse. De nombreuses études structurales avec des ligands polyaminocarboxylate cycliques de type DOTA ont été reportées dans la littérature pour lesquels la présence d'équilibres conformationnels ou d'équilibres de coordination a été observée.^[7-11] En effet, dans les complexes avec le ligand DOTA ou ses dérivés, le cyclène peut adopter deux conformations ($\lambda\lambda\lambda\lambda$ ou $\delta\delta\delta\delta$) selon la valeur des angles de torsion N-C-C-N. De même, les bras acétate peuvent avoir deux orientations (gauche (Λ) ou droite (Δ)) donnant naissance à l'existence de quatre stéréoisomères en solution. Ainsi, des phénomènes d'interconversion entre les stéréoisomères peuvent avoir lieu en solution. Un comportement analogue pourrait être envisagé pour nos complexes. Nous présenterons ici le cas des complexes avec ligand H₃bpatcn dont la structure est rappelée ci-dessous (Figure III. 5).

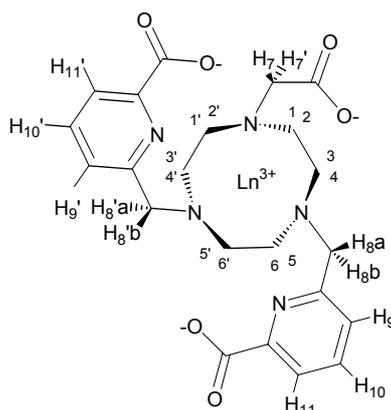


Figure III. 5 : Représentation schématique des complexes [Ln(bpatcn)].

Similairement à ce qui est observé pour les complexes de DOTA, le ligand H₃bpatcn peut donner naissance à quatre stéréoisomères qui peuvent être partagés en deux paires énantiomériques de deux diastéréoisomères ($\Lambda(\lambda\lambda\lambda)/\Delta(\delta\delta\delta)$) ou ($\Lambda(\delta\delta\delta)/\Delta(\lambda\lambda\lambda)$) (Figure III. 6). Un échange simultané du

cycle ou de l'hélicité des bras conduit à l'obtention d'un énantiomère. Un échange dissocié du cycle ou des bras permet d'obtenir un diastéréoisomère.

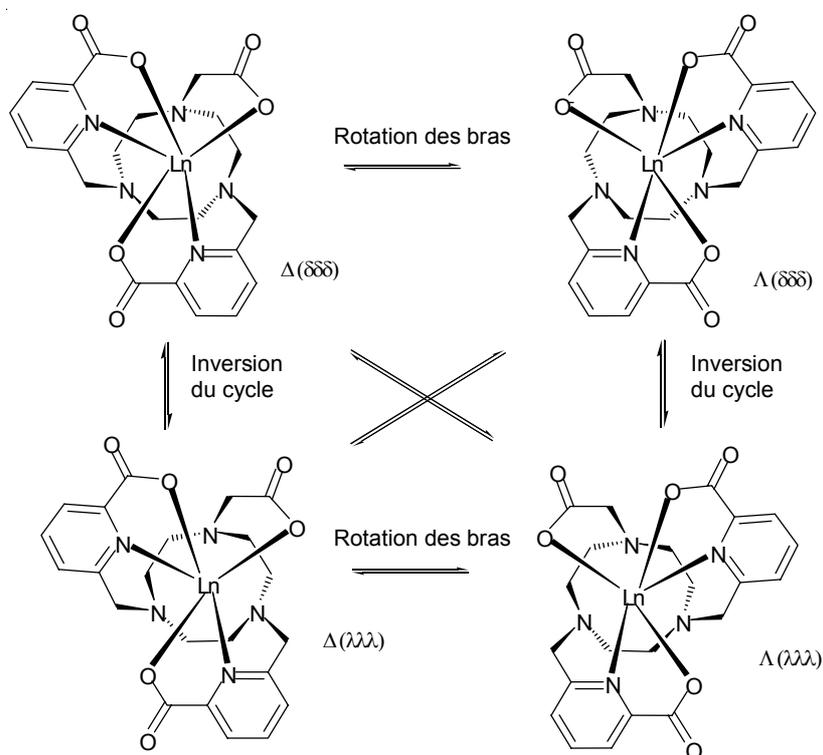


Figure III. 6 : Représentation schématique des différents mécanismes d'échange entre les isomères du complexe [Ln(bpatcn)].

Dans le cas d'une coordination rigide des huit atomes donneurs du ligand, la formation d'une espèce de symétrie C_1 en solution est attendue et donne lieu à l'obtention de 24 signaux sur le spectre RMN ^1H . Plusieurs situations peuvent se présenter selon le nombre d'espèces en solution et la dynamique :

- les deux paires de diastéréoisomères sont présentes et aucune interconversion n'a lieu : deux ensembles distincts de 24 pics sont observés par RMN ^1H ;
- une seule paire de deux énantiomères est présente et aucun processus d'échange n'a lieu : 24 signaux distincts sont obtenus ;
- un rapide échange entre les deux énantiomères a lieu : une espèce moyenne de symétrie C_s est observée et correspond à la coalescence des 24 signaux en un seul ensemble de 11 pics.

Comme il s'agit d'une espèce dissymétrique, nous pouvons également envisager le retournement d'un seul des bras, à savoir le bras acétate le plus mobile.

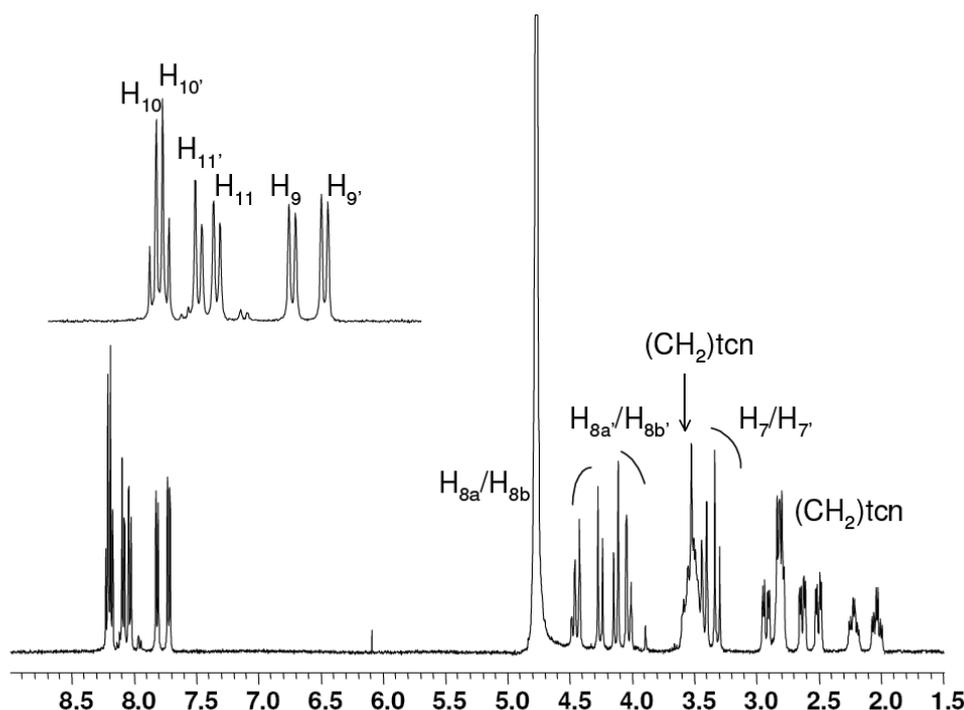


Figure III. 7 : Spectre RMN ^1H du complexe $[\text{Lu}(\text{bpatcn})]$ (D_2O , $\text{pD} = 4.2$, 25°C).

Le spectre RMN ^1H du complexe de Lu(III) (D_2O , $\text{pD} = 4.2$, 25°C) possède 24 signaux diamagnétiques (Figure III. 7). Six signaux sont attribués aux protons des pyridines, douze résonances qui se recouvrent partiellement correspondent aux protons du macrocycle et six résonances sont observées pour les protons des groupements méthylène des bras. L'attribution des signaux a pu être réalisée par l'analyse simultanée des couplages scalaires (expérience 2D-COSY) et de l'effet Overhauser (expérience ^1H - ^1H NOESY). Les protons des groupements CH_2 (H_7/H_7' , $\text{H}_{8a}/\text{H}_{8b}$ et $\text{H}_{8a'}/\text{H}_{8b'}$) sont diastéréotopiques, indiquant que les azotes du macrocycle restent coordonnés au métal. Un fort effet NOE est observé entre les protons $\text{H}_{8a}/\text{H}_{8b}$ et $\text{H}_{8a'}/\text{H}_{8b'}$ et les protons aromatiques H_9 et $\text{H}_{9'}$ respectivement. Les protons éthyléniques du cycle 1,4,7-triazacyclononane forment une série de multiplets, de doublets de doublets et de triplets qui sont seulement partiellement attribués. Nous pouvons noter que le spectre reste inchangé dans la gamme de pH 4.2-9. Ainsi, l'allure du spectre est en accord soit avec la présence d'un couple d'énantiomères ($\Lambda(\lambda\lambda\lambda)/\Delta(\delta\delta\delta)$ ou $\Lambda(\delta\delta\delta)/\Delta(\lambda\lambda\lambda)$) (en échange dynamique ou non) en solution, soit avec la coalescence de deux espèces de symétrie C_1 pour lesquelles le bras acétate est en échange rapide. Afin de mettre en évidence un possible phénomène d'échange en solution, nous avons répété ces spectres pour des températures variant de 5°C à 70°C . Aucun changement significatif du spectre mono-dimensionnel n'est observé dans la gamme de température considérée.

Ces processus d'échange peuvent être également visualisés, à l'échelle du temps RMN (> 0.25 ms), par des expériences bi-dimensionnelles EXSY. Nous avons réalisé ces expériences à 25°C et à 70°C . A 25°C , aucune tâche d'échange n'est observée, indiquant l'absence d'échange en solution. Il s'agit

donc forcément de deux énantiomères rigides en solution. Cependant, à 70°C des tâches de corrélation sont visualisées entre le groupe de protons 1 à 11 et leurs analogues 1' à 11' (Figure III. 5), générant ainsi un plan de symétrie perpendiculaire au macrocycle. Cette interaction correspond à un échange lent entre deux espèces à 70°C. L'échange est trop lent pour pouvoir être observé par RMN monodimensionnelle et la largeur des signaux n'est pas affectée par la température. Comme le spectre à 25°C est en accord avec la présence de deux énantiomères, nous avons interprété cet échange en terme d'échange lent entre les deux énantiomères.

Le spectre de l'Y(III), de nombre de coordination et de rayon ionique similaire à l'Er(III), est voisin de celui observé avec le Lu(III) et indique également une symétrie C_1 en solution.

Le spectre RMN ^1H du lanthane dans D_2O à 25°C (pD = 7.1) est représenté ci-dessous (Figure III. 8).

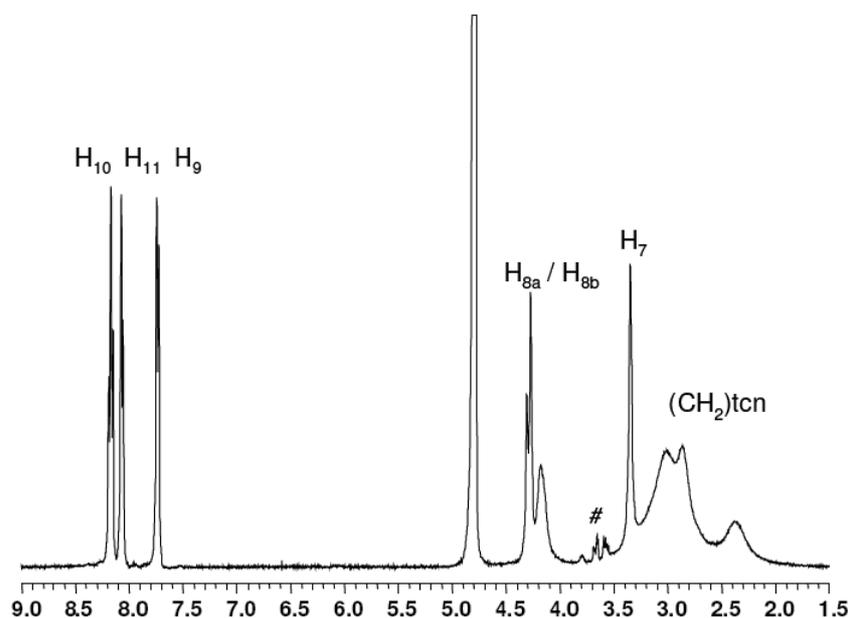


Figure III. 8 : Spectre RMN ^1H du complexe $[\text{La}(\text{bpatcn})]$ (D_2O , pD = 7.1, 25°C) (# traces de l'électrolyte du pH-mètre).

Contrairement à ce qui a été observé pour les complexes avec les ions plus petits (Lu(III), Y(III)), le spectre compte seulement neuf signaux distincts. Trois signaux sont attribués aux protons aromatiques des pyridines et deux doublets, dont un est mal résolu, correspondent aux protons méthyléniques des bras porteurs du groupement picolinate. Un singulet est associé aux protons de l'acétate et trois pics larges au cycle triazacyclononane. Comme mentionné plus haut, un ensemble de onze signaux bien résolus est attendu dans le cas d'une espèce moyenne de symétrie C_s . Ainsi, le spectre observé indique qu'un processus dynamique est en cours à cette température. A 70°C, le spectre est similaire avec quatre signaux correspondants aux protons du macrocycle. Même si la coalescence n'est pas encore atteinte aux températures étudiées, le phénomène observé correspond bien à une interconversion rapide entre deux énantiomères ($\Lambda(\lambda\lambda\lambda)/\Delta(\delta\delta\delta)$ ou $\Lambda(\delta\delta\delta)/\Delta(\lambda\lambda\lambda)$) mettant en jeu un mécanisme

concerté d'inversion du cycle 1,4,7-triazacyclononane et des bras. Les spectres du complexe [La(bpatcn)] ont également été réalisés dans l'eau à des températures comprises entre 5°C et 25°C et dans un mélange eau/méthanol à basses températures ($-40 < T < 5^\circ\text{C}$). Des signaux de plus en plus larges sont observés, en accord avec un ralentissement de la cinétique d'interconversion. Un ralentissement du processus devrait être observé jusqu'à atteindre une vitesse nulle et retrouver 24 signaux distincts. Cependant, cette limite n'est pas atteinte dans la gamme de température étudiée.

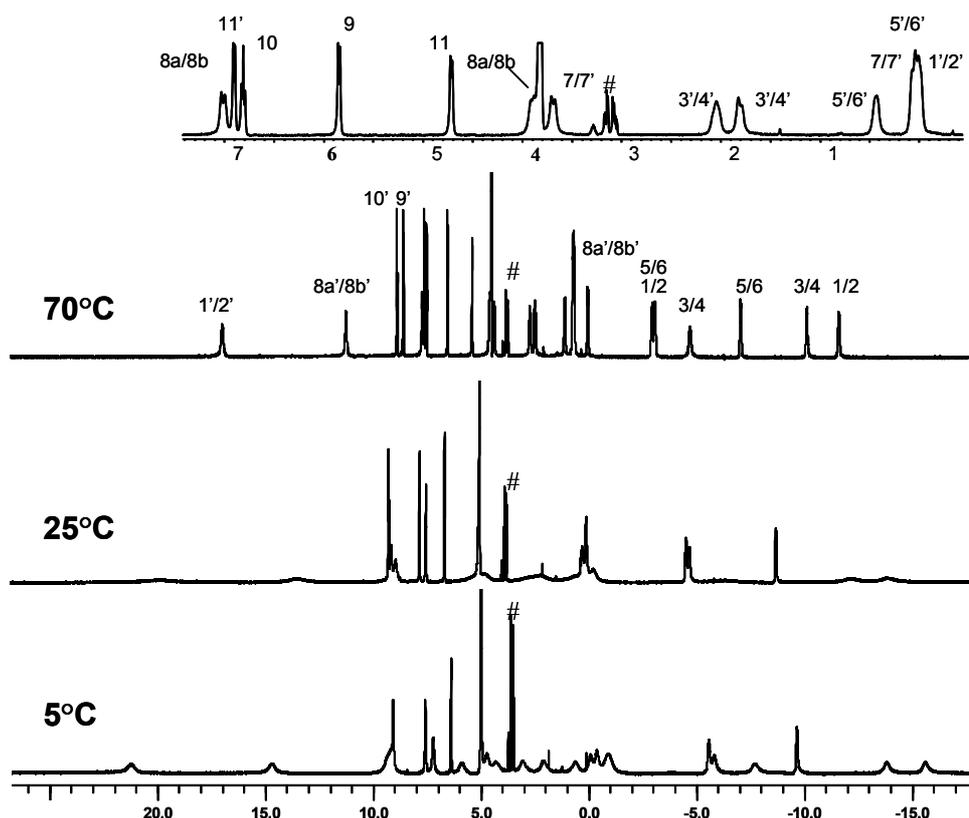


Figure III. 9 : Spectres RMN ^1H du complexe [Eu(bpatcn)] (D_2O , $\text{pD} = 9.1$) à 5, 25 et 70°C . (# électrolyte du pH-mètre).

A 70°C , le spectre RMN ^1H du complexe d'Eu(III) (D_2O , $\text{pD} = 9.1$) possède, tout comme le complexe de Lu(III), un seul ensemble de 24 signaux fins en accord avec la présence d'espèces de symétrie C_1 en solution : soit un couple d'énantiomère, soit de deux diastéréoisomères en coalescence. Les signaux ont complètement été attribués en combinant les résultats des expériences bidimensionnelles COSY et NOESY (Figure III. 9). Comme dans le cas du complexe de Lu(III), des tâches de corrélation sont observées par EXSY à 70°C entre les protons des deux unités pyridine d'une part, et des protons diastéréotopiques du cycle triazacyclononane d'autre part. Ainsi, à cette température, un échange entre deux espèces a lieu. Plusieurs spectres RMN ^1H ont été enregistrés entre 70°C et 5°C . En abaissant la température ($10 < T < 70^\circ\text{C}$), un élargissement important des pics est observé et indique qu'un processus dynamique est ralenti. Cependant, en dessous de 10°C , les signaux deviennent à nouveau plus fins et le spectre obtenu à 5°C est très similaire à celui obtenu à 70°C mais avec des

signaux plus larges et légèrement déplacés (Figure III. 9). Ce processus complexe est vraisemblablement lié au ralentissement de l'un des phénomènes d'interconversion par rapport à l'autre (échange du cycle / des bras). Ainsi, les quatre espèces seraient présentes en solution à des concentrations très différentes mais l'espèce minoritaire ne serait pas détectée par RMN ^1H à cause de sa très faible concentration. Un comportement similaire a été déjà observé par S. Aime et ses collaborateurs avec un dérivé du DOTA comportant un substituant *p*-nitrophényle. Il avait été également interprété en terme d'échange entre une espèce majoritaire et une espèce minoritaire dont la concentration change avec la température.^[12]

Alors qu'aucun phénomène dynamique n'avait été observé pour les complexes $[\text{Ln}(\text{tpatcn})]$,^[13] nous venons de mettre en évidence l'existence de processus d'interconversion du cycle triazacyclononane et des bras pour les complexes du ligand bpatcn^3- . Ces processus sont classiquement rencontrés dans la série du DOTA mais ont également été mis en évidence pour les complexes du ligand NOTA^{3-} ^[14] et du ligand 1,4,7-tris-(carbamoylméthyl)-1,4,7-triazacyclononane.^[15] De plus, ces études ont montré la formation d'espèces rigides de symétrie C_1 en solution avec les petits lanthanides (Lu(III) et Y(III) ~Er(III)) pour lesquelles aucune décooordination des bras ou des azotes du macrocycle n'est observée. En revanche, la flexibilité conformationnelle est accrue pour les ions de taille supérieure comme le lanthane(III). Cette étude suggère des structures similaires pour les deux séries $[\text{Ln}(\text{tpatcn})]$ et $[\text{Ln}(\text{bpatcn})]$ avec une rigidité différente. Une étude similaire a été récemment réalisée par M. Schröder et ses collaborateurs sur des complexes de Ln(III) avec un ligand assymétrique dérivé du 1,4,7-triazacyclononane comportant deux substituants iminocarboxylate. Ils ont observés une flexibilité accrue des complexes en solution par rapport à l'analogie symétrique mais des géométries de coordination similaires à l'état solide pour les deux séries de complexe.

Une étude similaire a été réalisée avec les autres systèmes dérivés du 1,4,7-triazacyclononane. Le même processus d'interconversion entre une paire d'énantiomères ($\Lambda(\lambda\lambda\lambda)/\Delta(\delta\delta\delta)$ ou $\Lambda(\delta\delta\delta)/\Delta(\lambda\lambda\lambda)$) a été observé. Toutefois, nous allons voir que la flexibilité conformationnelle des complexes varie en fonction de l'architecture du ligand.

- **Etude des complexes avec le ligand ebpatcn^3-**

A 70°C, le spectre RMN ^1H du complexe $[\text{Eu}(\text{ebpatcn})]$ (D_2O , pD = 7.4) possède, similairement au complexe $[\text{Eu}(\text{bpatcn})]$, un seul ensemble de 26 signaux fins en accord avec la présence d'une espèce rigide de symétrie C_1 en solution (Figure III. 10). Des expériences COSY et NOESY ont été également réalisées à 25°C et à 70°C. L'attribution partielle des signaux est donnée Figure III. 10. Aucune tâche d'échange n'est observée à 25°C et à 70°C.

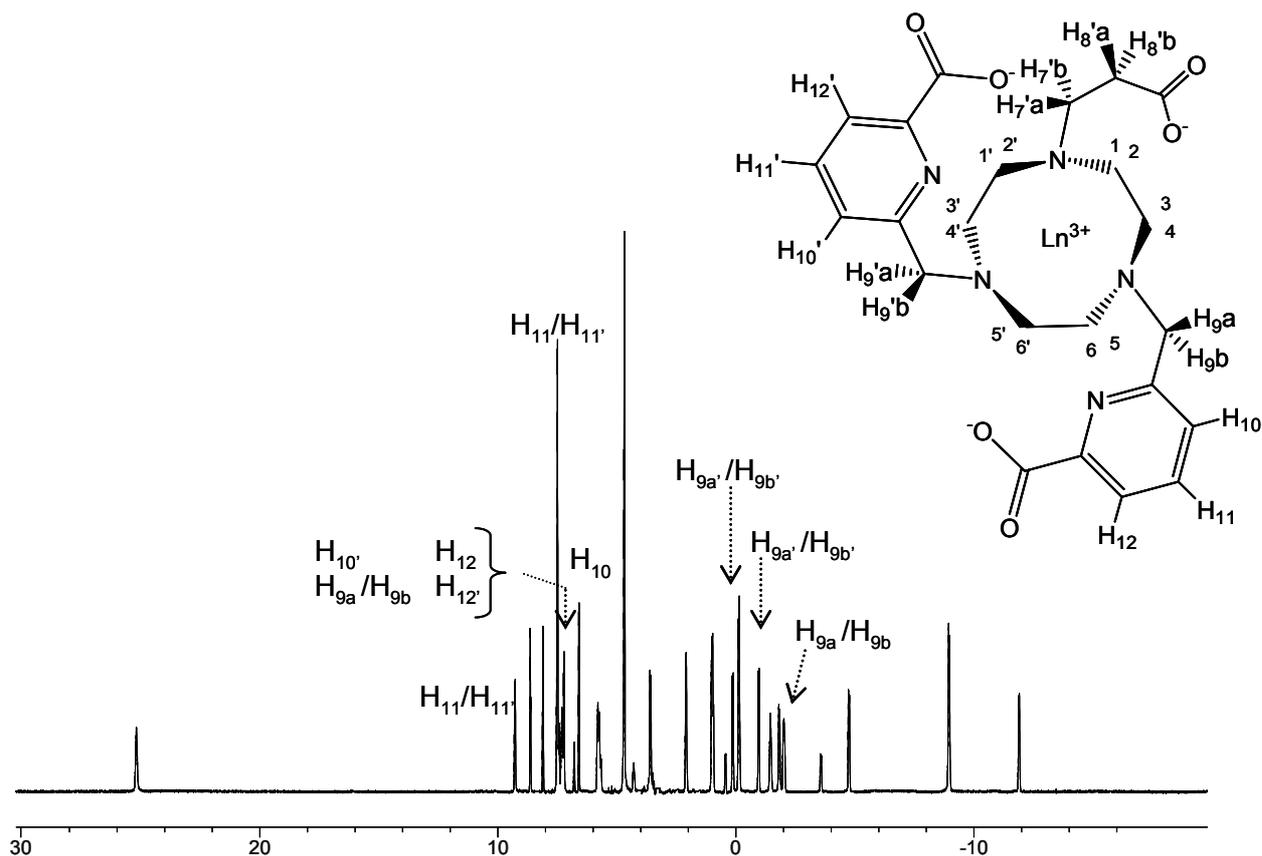


Figure III. 10 : Spectre RMN ^1H du complexe $[\text{Eu}(\text{ebpatcn})]$, D_2O , 70°C , 400 MHz , $\text{pD} = 7.4$.

Le motif reste inchangé dans une gamme de températures allant de 5°C à 70°C . Deux interprétations peuvent être envisagées pour expliquer ces résultats :

- i) un seul couple d'énantiomères ($\Lambda(\lambda\lambda\lambda)/\Delta(\delta\delta\delta)$ ou $\Lambda(\delta\delta\delta)/\Delta(\lambda\lambda\lambda)$) est présent en solution et l'échange entre les deux espèces est trop lent pour pouvoir être observé par RMN. Ce comportement avait déjà été observé pour le complexe de $\text{Lu}(\text{III})$ avec le ligand bpatcn^{3-} . Cette hypothèse indiquerait un échange ralenti pour le complexe $[\text{Eu}(\text{ebpatcn})]$ par rapport à celui observé avec le complexe $[\text{Eu}(\text{bpatcn})]$. Cette augmentation de rigidité pourrait être interprétée par une meilleure adaptation du ligand ebpatcn^{3-} à l'ion $\text{Eu}(\text{III})$.
- ii) les deux couples d'énantiomères ($\Lambda(\lambda\lambda\lambda)/\Delta(\delta\delta\delta)$ et $\Lambda(\delta\delta\delta)/\Delta(\lambda\lambda\lambda)$) sont présents en solution mais l'espèce minoritaire est présente à de trop faibles concentrations pour pouvoir être détectée par RMN. Ce comportement avait déjà été observé avec le complexe $[\text{Eu}(\text{bpatcn})]$. Toutefois, aucun ralentissement d'un des processus dynamiques (échange des bras / du cycle) n'est observé dans la gamme de températures étudiées pour le complexe $[\text{Eu}(\text{ebpatcn})]$. Ce résultat serait en accord avec une flexibilité accrue par rapport à celle du complexe $[\text{Eu}(\text{bpatcn})]$.

Des expériences complémentaires sont envisagées afin d'accéder à une meilleure compréhension du système.

De manière similaire au complexe [Lu(bpatcn)], le complexe [Lu(ebpatcn)] possède une structure figée en solution. Le spectre RMN ^1H indique la présence de 26 signaux qui se recouvrent partiellement (Figure III. 11). Il est inchangé dans une gamme de température allant de 5°C à 70°C .

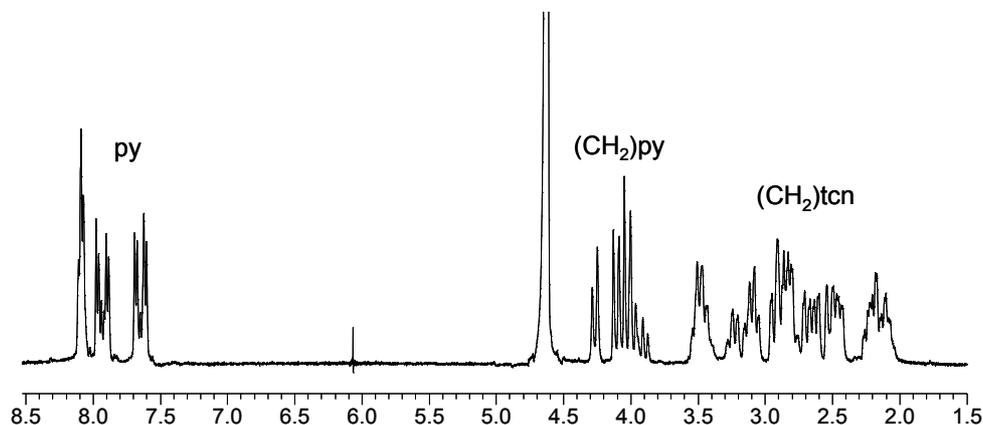


Figure III. 11 : Spectre RMN ^1H du complexe [Lu(ebpatcn)], D_2O , 25°C , 400 MHz, $\text{pD} = 7.9$.

Nous avons vu précédemment que la flexibilité conformationnelle des complexes avec le ligand bpatcn^{3-} était accrue pour l'ion $\text{La}(\text{III})$, de taille supérieure. Ici encore, un phénomène dynamique est observé en faisant varier la température. A 25°C , le spectre RMN ^1H du [La(ebpatcn)] possède 26 signaux en accord avec une espèce rigide de symétrie C_1 en solution. Cependant, à 70°C , un élargissement du spectre est observé et indique qu'un phénomène dynamique a lieu (Figure III. 12). De plus, seulement trois signaux distincts sont observés pour les six protons des pyridines, un massif mal résolu correspond aux quatre protons méthyléniques des bras et un signal très large aux douze protons du cycle triazacyclononane. Ce motif est en accord avec un échange rapide entre un couple d'énantiomères de symétrie C_1 , donnant lieu à un spectre moyen de symétrie C_s . Contrairement au complexe [La(bpatcn)], cet échange est encore très lent à 25°C , en accord avec une meilleure adaptation de la sphère de coordination aux gros lanthanides.

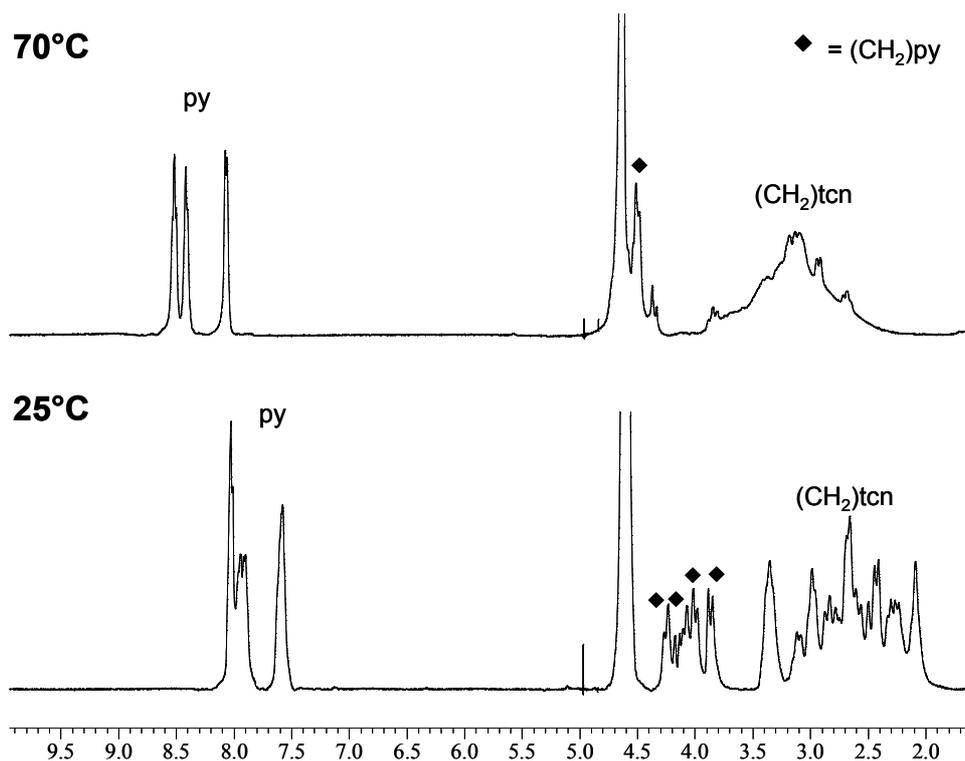


Figure III. 12 : Spectres RMN ^1H du complexe $[\text{La}(\text{ebpatcn})]$ à 25°C et à 70°C , D_2O , 400 MHz, pD = 6.9.

Etude des complexes avec le ligand pbpatcn⁴⁻

Les spectres RMN ^1H du complexe $[\text{Eu}(\text{pbpatcn})]^-$ (D_2O , pD = 5.5) indiquent également la présence d'une espèce rigide de symétrie C_1 en solution. A 70°C , 26 résonances sont observées et correspondent aux 26 protons du ligand ; à 25°C et en dessous, le motif reste inchangé et les pics ne sont pas élargis (Figure III. 13). Les 26 protons ont été attribués au moyen d'expériences NOESY et COSY à différentes températures. Ces résultats indiquent un comportement similaire pour les deux complexes $[\text{Eu}(\text{pbpatcn})]^-$ et $[\text{Eu}(\text{ebpatcn})]$.

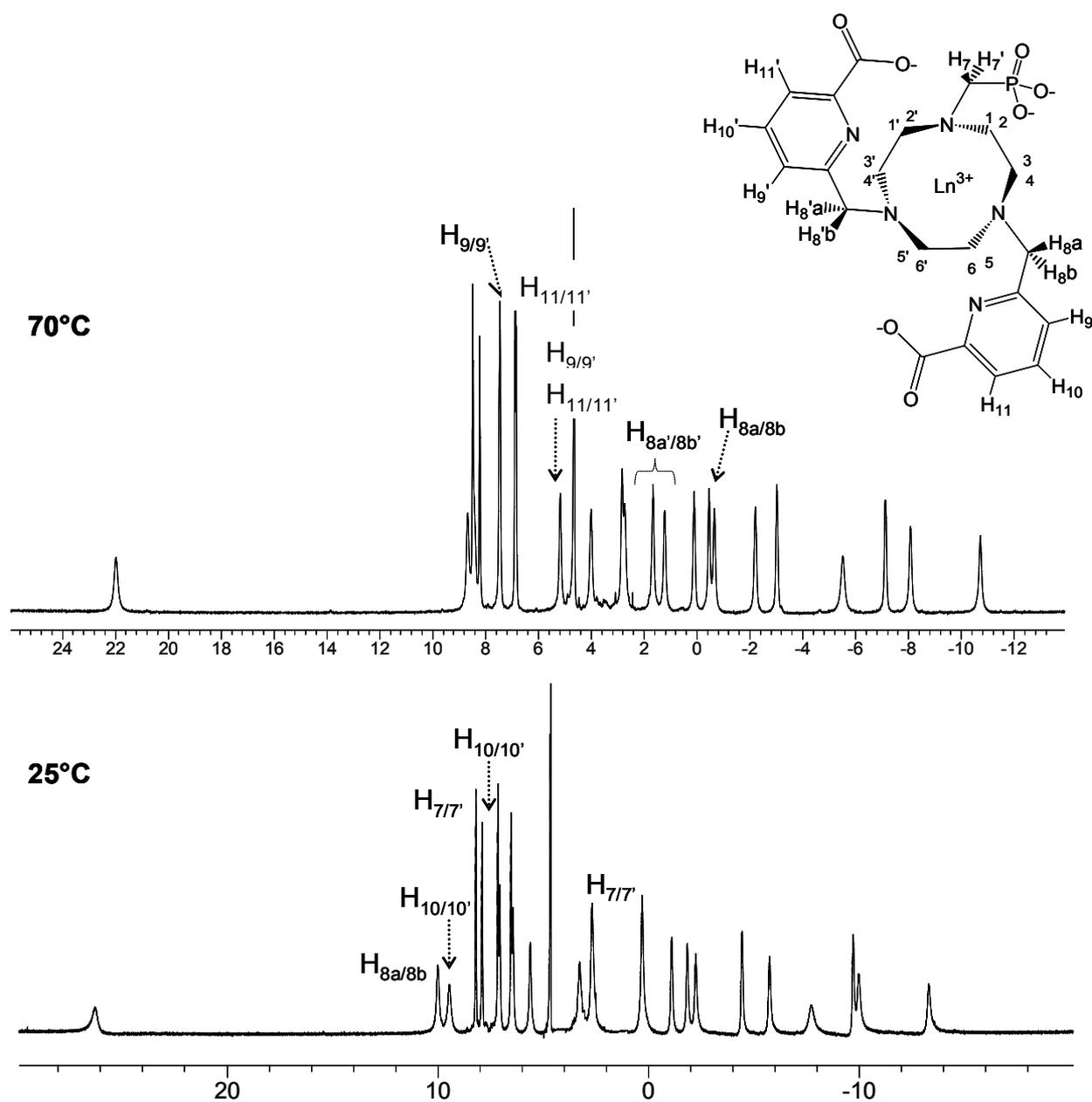


Figure III. 13 : Spectres RMN ^1H des complexes $[\text{Eu}(\text{pbpatcn})]^-$ à 25°C et à 70°C, D_2O , 400 MHz, $\text{pD} = 5.5$.

Etude des complexes avec le ligand mpatcn³⁻

Un phénomène d'interconversion des deux énantiomères est observé pour le complexe $[\text{Lu}(\text{mpatcn})]$ dès 25°C, indiquant une moins bonne adaptation du ligand au petit ion Lu(III), en accord avec une flexibilité conformationnelle accrue. Dès 25°C, seulement neuf signaux distincts sont observés sur le spectre RMN ^1H , en accord avec une symétrie C_s en solution (Figure III. 14). Les protons des méthylènes adjacents au cycle picolinate sont diastéréotopiques et indiquent l'absence de décooordination des azotes du ligand en solution.

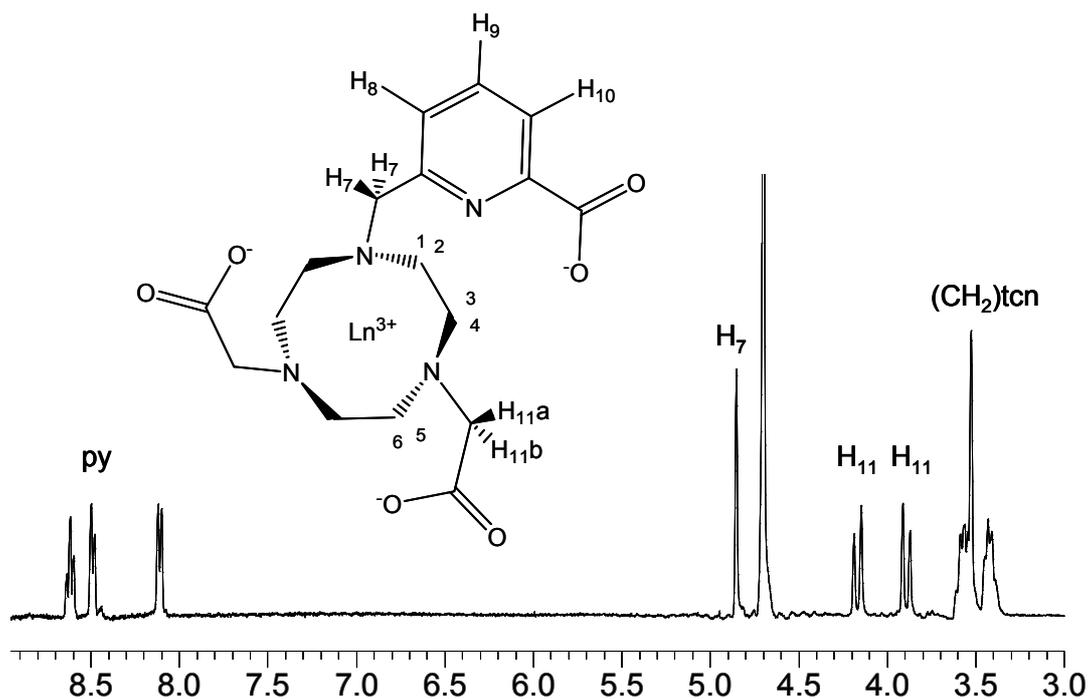


Figure III. 14 : Spectre RMN ¹H du complexe [Lu(mpatcn)], D₂O, 70°C, 400 MHz, pD = 7.0.

Ce même phénomène d'échange est également observé pour le complexe avec l'ion Eu(III). A 70°C, le spectre RMN ¹H indique la présence de neuf signaux distincts caractéristiques d'une symétrie C_s. Les résonances ont été attribuées aux différents protons à l'aide d'expériences COSY et NOESY (Figure III. 15). Des tâches d'échange entre les protons diastéréomériques du cycle sont observées à 70°C et à 25°C, confirmant la présence d'un échange entre les deux espèces. Un élargissement des signaux est observé par refroidissement de la solution de 70°C à 5°C, indiquant que le processus dynamique est ralenti.

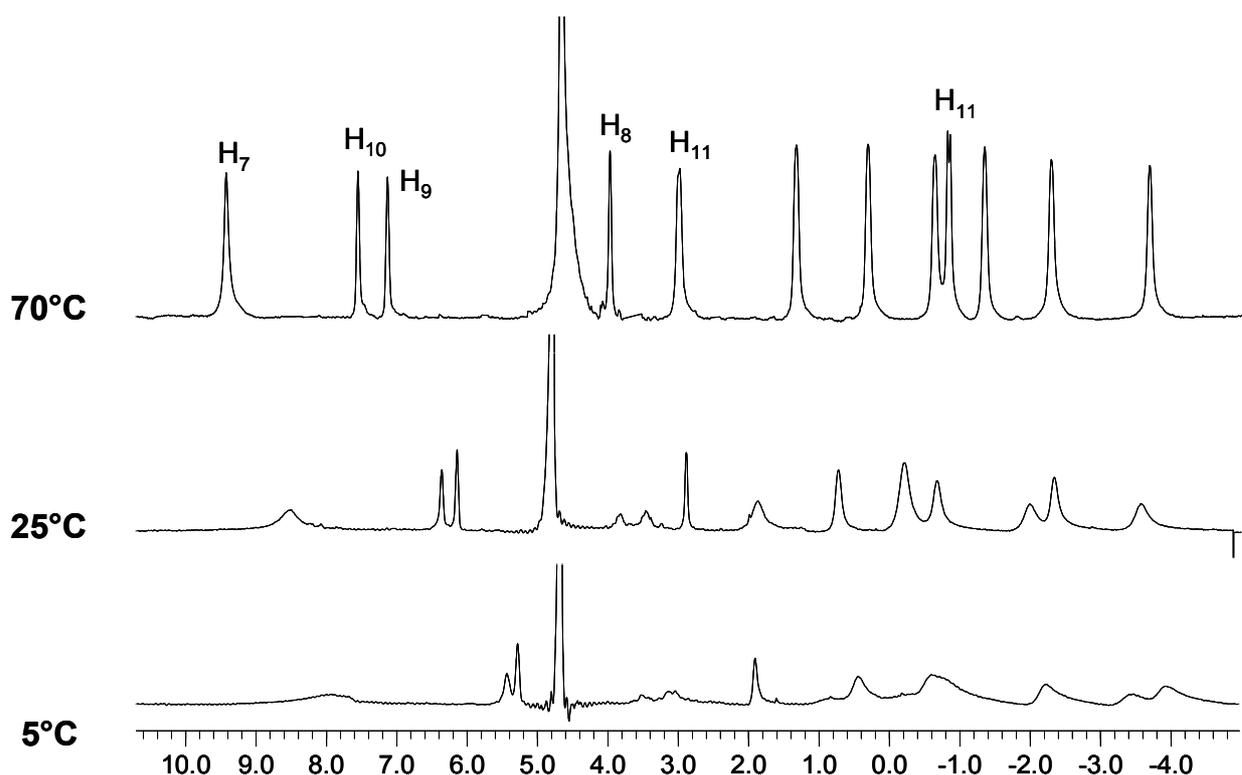


Figure III. 15 : Spectres RMN ^1H du complexe $[\text{Eu}(\text{mpatcn})]$ à 5, 25 et 70°C, D_2O , 400 MHz, pD = 7.2.

I.2.2. Détermination du nombre de molécules d'eau coordinées

Nous avons vu que le nombre de molécules d'eau en première sphère de coordination pouvait être déterminé à partir de la mesure des temps de vie de luminescence des complexes d'Eu(III) et de Tb(III), en utilisant l'équation de Beeby et ses collaborateurs (Annexe 1). Comme l'unité picolinate permet une sensibilisation efficace des ions Eu(III) et Tb(III), les temps de vie des complexes ont été mesurés après excitation du ligand. Le temps $\tau_{\text{H}_2\text{O}}$ est mesuré à partir d'une solution 1 : 1 métal : ligand, tamponnée par une solution aqueuse de tampon Tris 0.1 M (pH = 7.4) et le temps $\tau_{\text{D}_2\text{O}}$ dans une solution d'eau deutérée après ajustement du pD avec une solution de NaOD. Les temps de vie des complexes étudiés et leur nombre de molécules d'eau coordinées sont rassemblés dans le tableau ci-dessous (Tableau III. 1). Le Gd(III) ayant un rayon ionique intermédiaire entre le Eu(III) et le Tb(III), on attend un nombre de molécules d'eau similaire.

		λ_{ex} (nm)	$\tau_{\text{H}_2\text{O}}$ (ms)	$\tau_{\text{D}_2\text{O}}$ (ms)	$q \pm 0.2$
bpatcn ³⁻	[Eu(bpatcn)]	273	0.542(4)	1.67(4)	1.2
	[Tb(bpatcn)]	273	1.49(2)	2.46(7)	1.0

Tableau III. 1 : Temps de vie des complexes d'Eu(III) et de Tb(III) avec les ligands bpatcn³⁻, dans le tampon Tris (pH = 7.4) et dans le D₂O (pD = 7.4), ainsi que le nombre de molécules d'eau en sphère interne q calculé.

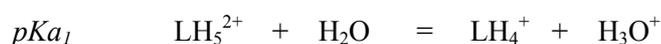
Comme attendu, les résultats des complexes [Ln(bpatcn)] (Ln = Eu, Tb) sont en accord avec la formation de complexes 1 : 1 en solution pour lesquels le centre métallique est lié par les huit atomes donneurs du ligand et dont le dernier site de coordination est occupé par une molécule d'eau. Pour l'étude des données relaxométriques (§ I.3.), nous considérerons q égal à 1. De manière analogue, les complexes avec le ligand heptadente mpatcn³⁻ possèdent un nombre d'hydratation égal à deux. Le nombre de molécules d'eau dans la sphère de coordination des complexes [Ln(pbpatcn)]⁻ et [Ln(ebpatcn)] (Ln = Eu, Tb) n'a pas encore été mesuré. Cependant, leur architecture étant très similaire à celle des complexes avec le ligand H₃bpatcn, nous avons supposé q = 1. Cette valeur sera vérifiée par la mesure de la relaxivité du complexe de Gd(III) dans l'eau (voir § I.3.).

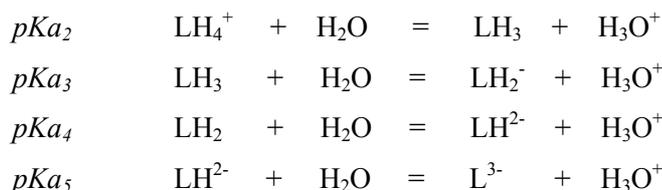
I.2.3. Protonation des ligands et stabilité des complexes

Le ligand H₃bpacn, et de manière analogue, les ligands H₃ebpatcn et H₃mpatcn possèdent cinq sites ayant des propriétés acidobasiques dans la gamme de pH étudié (2 < pH < 9). A pH = 2, seuls les trois acides carboxyliques et deux des azotes du macrocycle 1,4,7-triazacyclononane sont protonés. En effet, par comparaison avec l'acide picolinique dont le pK_a de l'azote pyridinique est inférieur à 1,^[16, 17] nous pouvons considérer que les pyridines ne se protonent pas aux acidités considérées. De même, le troisième azote du cycle triazacyclononane se protone à un pH plus acide et son pK_a n'a pu être déterminé. Ainsi, cinq constantes de protonation des ligands ont été déterminées par potentiométrie. Nous allons détailler uniquement l'exemple du ligand H₃bpatcn.

- **Le ligand H₃bpatcn et de ses complexes**

Les dosages potentiométriques sont effectués de façon classique entre pH = 2.5 et pH = 10. Une solution aqueuse de ligand de concentration connue et de force ionique constante (KCl 0.1 M) est dosée par une solution calibrée de KOH 0.1 M. Le pH est mesuré après chaque ajout de base. Un dosage retour par une solution de HCl 0.1 M est effectué systématiquement. La courbe représentant le pH mesuré en fonction du nombre d'équivalents de base ajoutés est représentée Figure III. 16 (courbe orange). Le traitement des données des dosages aller et retour par le logiciel Hyperquad 2000^[18, 19] a permis de déterminer les cinq pK_a correspondant aux équilibres suivants :





Les valeurs sont rassemblées dans le tableau ci-dessous (Tableau III. 2). Elles correspondent à la moyenne d'au moins trois dosages indépendants.

pK_{a1}	pK_{a2}	pK_{a3}	pK_{a4}	pK_{a5}
2.2 ± 0.2	2.3 ± 0.03	3.7 ± 0.3	5.42 ± 0.2	10.5 ± 0.2

Tableau III. 2 : pKa du ligand H₃bpatcn (25°C, KCl 0.1 M).

Les trois acidités les plus fortes sont attribuées aux fonctions acide carboxylique et les pK_{a4} et pK_{a5} aux azotes du cycle 1,4,7-triazacyclononane. Cette attribution a été vérifiée par la mesure des déplacements chimiques des protons du ligand par RMN ¹H en fonction du pH de la solution. Les courbes des déplacements chimiques en fonction du pH sont représentées Figure III. 16. Le pH a été corrigé par rapport à l'effet isotopique du deutérium.

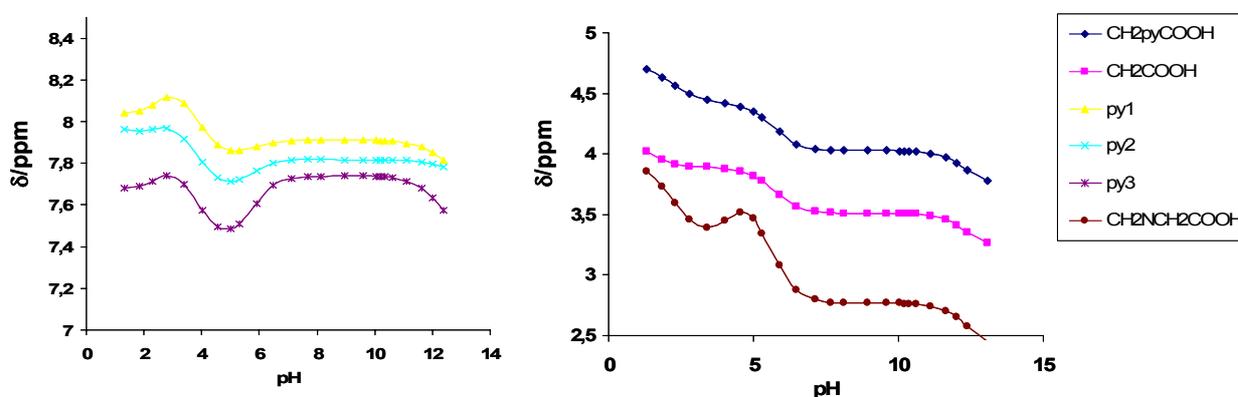


Figure III. 16 : Variation des déplacements chimiques des protons du ligand H₃bpatcn en fonction du pH.

Entre pH = 10 et pH = 13 et entre pH = 4.5 et pH = 7, une variation importante des déplacements chimiques des protons des groupements CH₂ en α de l'acide carboxylique et des pyridines (0.3 à 0.4 ppm) a lieu. En milieu acide (1.5 < pH < 4.5), une variation significative est observée pour les trois protons des pyridines (0.2 ppm à 0.3 ppm) puis pour les méthylènes proches du picolinate. Ceci confirme que les deux premiers protons (pK_{a5} et pK_{a4}) sont équitablement répartis sur les trois azotes du macrocycle. Les troisième et quatrième protonations correspondent aux carboxylates liés aux pyridines. La dernière acidité est celle du groupement acétate.

De plus, nous avons vu au chapitre II. que la structure cristalline du ligand H₃bpatcn. 2 HCl, isolée à pH ~2, est également en accord avec la protonation de deux des trois azotes du 1,4,7-triazacyclononane.

Les deux pK_a les plus élevés sont très similaires de ceux déterminés pour le 1,4,7-triazacyclononane (10.42 et 6.82)^[20] et pour le ligand H₃nota (11.3(1) et 5.59(2)) (Figure III. 17). Les valeurs des pK_{a2} et pK_{a3}, correspondant à la protonation des picolinates, sont en accord avec celles trouvées pour le ligand tripode H₃tpaa (pK_{a2} = 3.3(1), pK_{a3} = 4.11(6)).^[21]

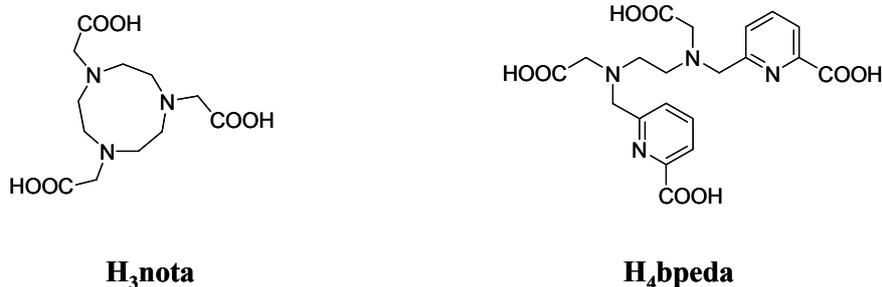


Figure III. 17 : Structure des ligands H₃nota et H₄bpeda.

Les constantes de stabilité thermodynamique des complexes formés entre les ions Gd(III), Ca(II) et Zn(II) et le ligand bpatcn³⁻ ont également été déterminées par potentiométrie. Nous avons procédé de la même façon que pour la détermination des pK_a. Des solutions aqueuses équimolaires de ligand et de sel métallique (GdCl₃, CaCl₂ et Zn(SO₄)₂) de concentrations connues et de force ionique constante (KCl 0.1 M) ont été dosées. Les courbes représentant le pH mesuré en fonction du nombre d'équivalents de base ajoutés sont représentées ci-dessous (Figure III. 18).

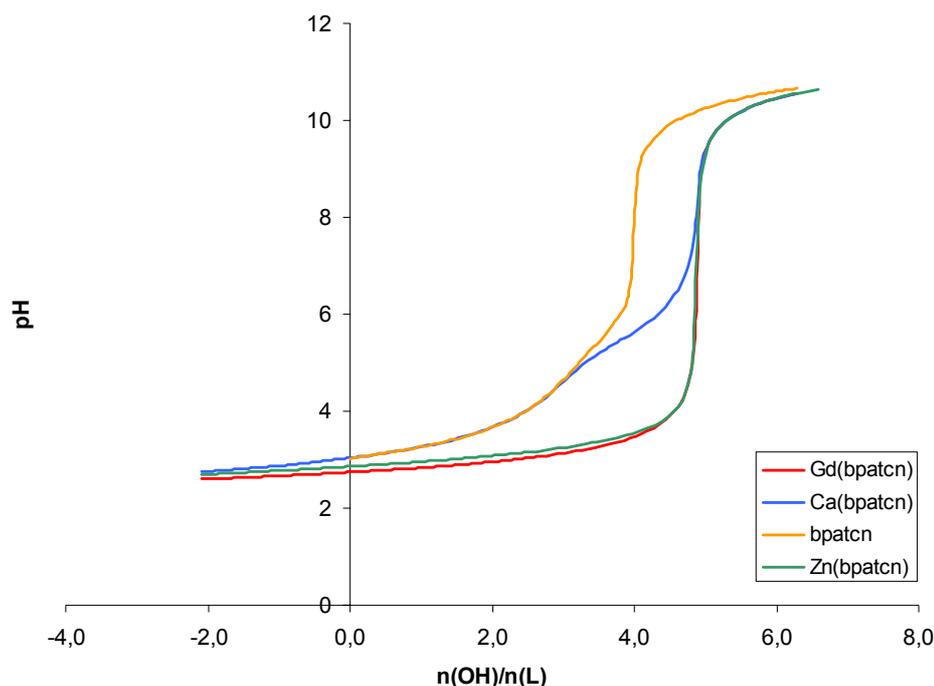
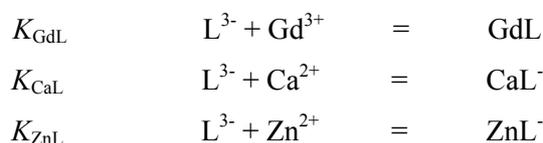


Figure III. 18 : Courbes de titration normalisées ($\text{pH} = f(n_{\text{OH}^-}/n_{\text{bpatcn}})$) pour des solutions de H_3bpatcn (0.48 mM) et de bpatcn-M ($\text{Ln} = \text{Ca}, \text{Gd}, \text{Zn}$) ($[\text{bpatcn}] = 0.48 \text{ mM}$, $[\text{M}] = 0.43 \text{ mM}$).

Les constantes de stabilité déterminées correspondent à la formation d'une seule espèce complexée, selon les équilibres ci-dessous :



Les valeurs des constantes et le pM associé sont rassemblés dans le Tableau III. 3. Le pM permet de comparer les propriétés de complexation de différents ligands en s'affranchissant de l'influence liée aux propriétés acidobasiques du ligand ; il est défini par les équations suivantes :

$$\begin{array}{l} \text{pM} = -\log [\text{M}]_{\text{libre}} \text{ à } \text{pH} = 7.4 \\ \text{avec } [\text{L}]_{\text{total}} = 10^{-5} \text{ M et } [\text{M}]_{\text{total}} = 10^{-6} \text{ M} \end{array}$$

	M = Gd	M = Ca	M = Zn
$\log K_{\text{ML}}$	15.8(2)	8.12(7)	14.5(3)
pM	13.6	6.30	12.4
pGd - pM	–	7.3	1.2

Tableau III. 3 : Constantes de stabilité des complexes du ligand bpatcn^{3-} et pM calculés.

La valeur du pGd indique une bonne stabilité du complexe $[Gd(bpatcn)(H_2O)]$ dans les conditions physiologiques et peut être comparé à celui de l'agent de contraste commercial $[Gd(dtpa-bma)(H_2O)]$ ($\log K_{GdL} = 16.85$, $pGd = 15.8$, $pCa = 6.39$ et $pZn = 11.02$). Comme nous l'avons vu en introduction, la sélectivité par rapport aux cations endogènes est cruciale en vue d'une application *in vivo* potentielle. Du fait des différences importantes de la chimie de coordination des métaux 4f et des métaux 3d (nombre de coordination, caractère des liaisons,...) il est difficile de prédire a priori la sélectivité d'un ligand. Cependant, elle peut être facilement estimée par la différence des pM ($pGd - pCa$, $pGd - pZn$) (Tableau III. 3). Au vu de ces valeurs, nous pouvons considérer que le ligand $H_3bpatcn$ est sélectif pour le $Gd(III)$ par rapport au $Ca(II)$. Cette sélectivité est associée à la présence des pyridines. En effet, l'ion $Ca(II)$ est plus petit et moins chargé et s'accommode d'un nombre de ligands inférieur au $Gd(III)$ ($CN = 6$). Ainsi, les liaisons ioniques sont privilégiées et la contribution de l'azote pyridinique est moindre. Notons que l'acidité du métal peut être directement reliée au rapport des charges sur les rayons ioniques : $Gd^{3+} = 2.84 \text{ \AA}^{-1}$, $Ca^{2+} = 2.00 \text{ \AA}^{-1}$.^[22] Celle du $Zn(II)$ est analogue à celle du $Gd(III)$ et son rapport charge/rayon ionique est égal à 2.70 \AA^{-1} . Ainsi, la sélectivité par rapport au $Zn(II)$ n'est plus déterminée par la basicité du ligand. De plus, le $Zn(II)$ peut former des liaisons covalentes avec les pyridines. Par conséquence, aucune sélectivité par rapport au $Zn(II)$ n'est observée pour le ligand $H_3bpatcn$. En revanche, nous pourrions envisager de contrôler la sélectivité en ajustant la taille de la cavité.^[23]

Afin d'éviter leur dissociation dans le liquide interstitiel, les complexes utilisés comme agent de contraste doivent avoir une inertie cinétique élevée. Les cinétiques des équilibres de transmétallation du $Gd(III)$ par les ions $Zn(II)$ et $Cu(II)$ de plusieurs complexes avec des ligands polyaminocarboxylates ont été étudiées. De manière générale, les ligands macrocycliques dérivés du DOTA possèdent une stabilité cinétique supérieure à celle des ligands polyaminocarboxylates linéaires.^[2] Ainsi, la stabilité cinétique du complexe $[Eu(bpatcn)]$ a été étudiée par compétition avec le $Zn(II)$. Dans une solution de $[Eu(bpatcn)]$ dans le D_2O à $pD = 6.9$ ($[Eu^{3+}] = 15 \text{ mM}$), on ajoute 1.2 équivalents de $ZnCl_2$ ($[Zn^{2+}] = 18 \text{ mM}$). Un précipité blanc apparaît, probablement associé à la formation d'un complexe de $Zn(II)$. Le spectre RMN 1H du surnageant a été réalisé immédiatement après l'ajout. Le spectre obtenu est caractéristique du complexe $[Eu(bpatcn)]$ (Figure III. 19) et indique que l'ion $Eu(III)$ n'a pas ou pas totalement été déplacé par l'ion $Zn(II)$. Cependant, la caractérisation de ce complexe insoluble est encore en cours actuellement. Il serait intéressant d'effectuer des expériences supplémentaires : à pH inférieur pour exclure la formation de complexe hydroxo de $Zn(II)$ et en présence d'un excès de $Zn(II)$.

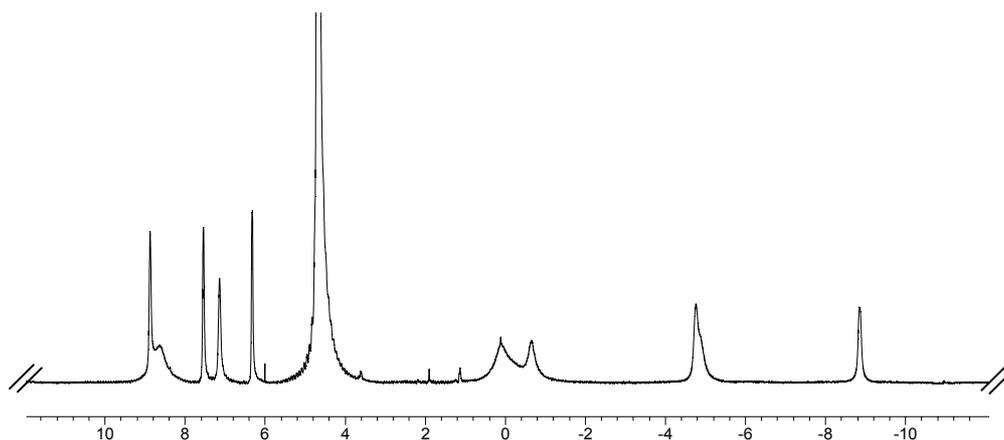


Figure III. 19 : Spectre RMN ^1H partiel (-12 à 12 ppm) d'une solution 1 : 1 : 1.1 bpatcn^{3-} : Eu : Zn, dans D_2O à 25°C, pD = 6.9.

- **Le ligand $\text{H}_4\text{pbpatcn}$ et son complexe de Gd(III)**

De manière analogue les constantes de protonation du ligand $\text{H}_4\text{pbpatcn}$ ont été déterminées par titration du ligand par une solution de potasse (Figure III. 20).

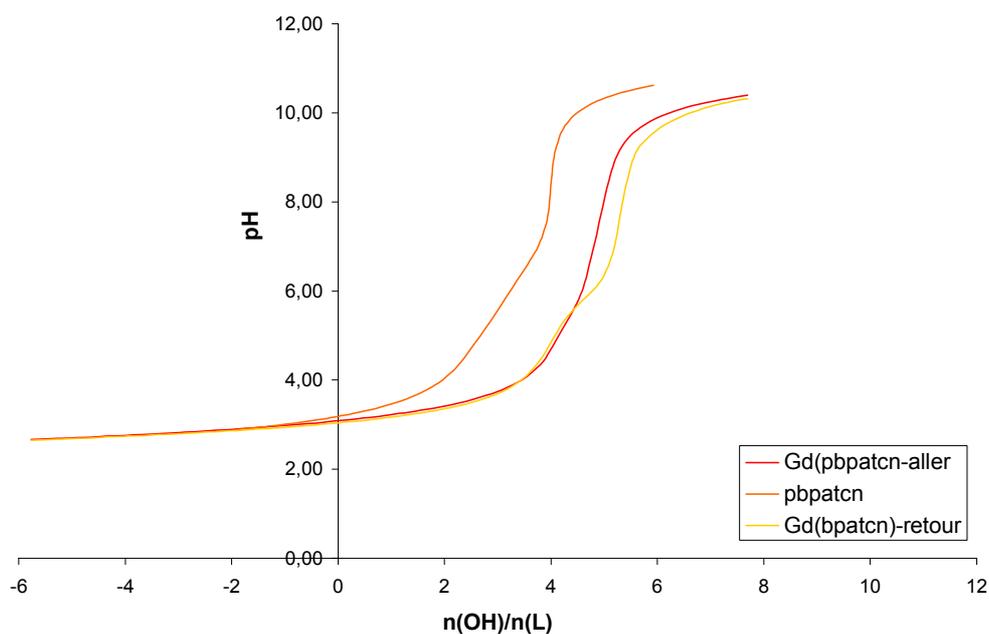
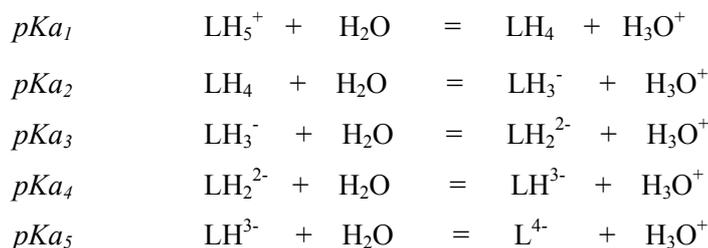


Figure III. 20 : Courbes de titration normalisées ($\text{pH} = f(n_{\text{OH}^-}/n_{\text{pbpatcn}})$) pour des solutions de $\text{H}_4\text{pbpatcn}$ (0.51 mM) et de pbpatcn-Gd ($[\text{pbpatcn}] = 0.26 \text{ mM}$, $[\text{Gd}] = 0.24 \text{ mM}$).

L'étude entre $\text{pH} = 2.7$ et $\text{pH} = 10.0$ permet d'accéder aux valeurs des cinq pK_a définis par les équilibres thermodynamiques suivants :



Seule la somme des deux premiers pK_a n'a pu être déterminée précisément par ajustement des données avec le logiciel Hyperquad. Les valeurs sont rassemblées dans le Tableau III. 4.

$\text{pK}_{a1} + \text{pK}_{a2}$	pK_{a3}	pK_{a4}	pK_{a5}
4.88 ± 0.06	4.36 ± 0.08	6.2 ± 0.2	10.5 ± 0.1

Tableau III. 4 : pK_a du ligand $\text{H}_4\text{pbpatcn}$ (25°C , KCl 0.1 M).

De manière similaire à ce qui a été observé dans le cas du ligand H_3bpatcn , les deux pK_a les plus élevés correspondent à l'introduction de deux protons sur les azotes du macrocycle. Le pK_{a5} est identique à celui déterminé précédemment pour le ligand H_3bpatcn . Il est significativement plus faible que celui du ligand H_8DOTP dont la charge négative est beaucoup plus importante (13.7)^[24] et similaire à celui mesuré pour un ligand linéaire dérivé du ligand H_5DTPA sur lequel une fonction acétate a été substituée par une fonction méthylènegosphonate ($\text{H}_6\text{DTPA-p}$) ($10.747(5)$) (Figure III. 21).^[25] La valeur du pK_{a4} est plus élevée que celle du ligand H_3bpatcn ($5.42(2)$) dû à la présence du groupement phosphonate.

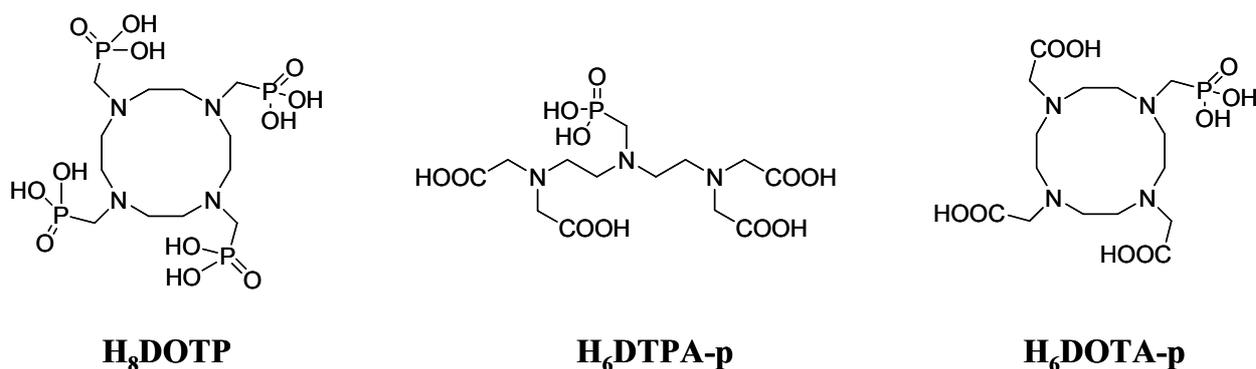
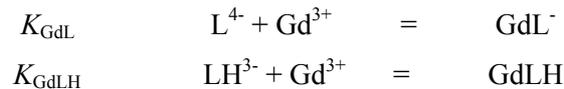


Figure III. 21 : Structure des ligands H_8DOTP , $\text{H}_6\text{DTPA-p}$ et $\text{H}_6\text{DOTA-p}$.

Malheureusement, peu de ligands cycliques de ce type ont déjà été étudiés. Un comportement similaire a été observé pour le ligand $\text{H}_6\text{DOTA-p}$: $\text{pK}_{a5} = 11.09$, $\text{pK}_{a4} = 9.94$, $\text{pK}_{a3} = 7.17$, $\text{pK}_{a2} = 4.00$ et $\text{pK}_{a1} = 2.82$ au lieu de 11.73 , 9.40 , 4.50 et 4.19 pour le DOTA.^[26] Les valeurs des pK_{a2} et pK_{a3}

correspondent à la protonation des fonctions picolinate. La valeur du pK_{a3} est en accord avec celle trouvée pour le ligand $H_3\text{bpatcn}$ ($pK_{a3} = 3.7(3)$) ; la somme $pK_{a1} + pK_{a2}$ l'est également ($4.5(2)$ pour bpatcn).

De manière analogue, les constantes de protonation du ligand $H_4\text{pbpatcn}$ ont été déterminées par titration du ligand par une solution de potasse (Figure III. 20). L'étude entre $\text{pH} = 2.7$ et $\text{pH} = 10.0$ permet d'accéder aux deux constantes de stabilité définies par les équilibres thermodynamiques suivants :



	L = bpatcn	L = pbpatcn
$\log K_{\text{GdL}}$	15.8(2)	14.2(2)
$\log K_{\text{GdLH}}$	-	5.4(3)
pM	13.6	12.07

Tableau III. 5 : Constantes de stabilité des complexes du ligand pbpatcn et pM calculés.

Le diagramme de distribution des espèces (Figure III. 22) indique la présence de complexe mono-protoné pour des valeurs de pH inférieures à 7.5. Pour des pH inférieurs à 4, la dissociation du complexe a lieu, ce qui nous permet de déterminer les constantes de stabilité du complexe.

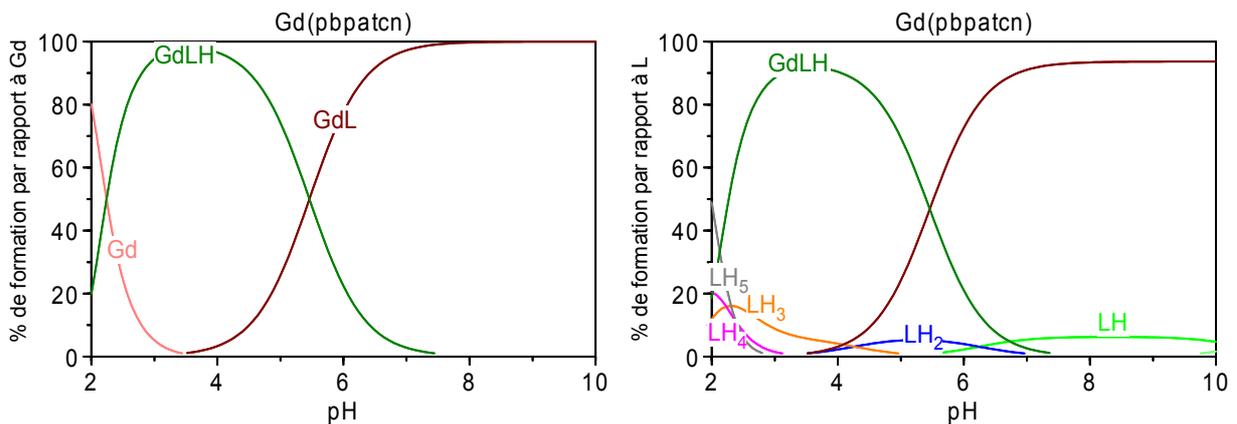


Figure III. 22 : Distribution des espèces en fonction du pH pour une stœchiométrie Gd : pbpatcn 1 : 1 ($[\text{pbpatcn}]_{\text{tot}} = 0.26 \text{ mM}$, $[\text{Gd}^{3+}] = 0.24 \text{ mM}$, $\text{KCl } 0.1 \text{ M}$, H_2O).

La constante de formation de l'espèce est obtenue sans ambiguïté : $\log K_{\text{GdLH}} = 5.53(7)$ et est en accord avec la valeur reportée pour la formation du complexe $[\text{Gd}(\text{Hbpeda-p})]^{5-}$ ($\log K_{\text{GdLH}} = 6.01(3)$) dont la structure du ligand est représentée Figure III. 23.^[27] Cependant, la non superposition du

deuxième saut de pH de la courbe de titration semble indiquer que la cinétique de déprotonation est lente. De ce fait, la constante de formation de l'espèce déprotonée ne peut être déterminée précisément par la méthode de potentiométrie en continu. Dans une bonne approximation, nous pouvons considérer la valeur suivante : $\log K_{\text{GdL}} = 15.4(8)$. Une cinétique lente avait déjà été reportée pour d'autres complexes cycliques incluant des groupements phosphonate comme par exemple le complexe $[\text{Gd}(\text{DO2P})]^-$ (Figure III. 23).^[28] Les constantes de stabilité des complexes avaient été déterminées par potentiométrie en batch. L'utilisation de cette technique devrait nous permettre d'obtenir des résultats plus précis.

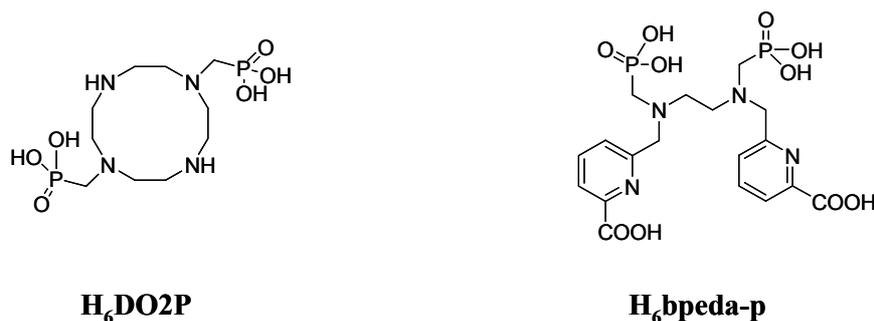


Figure III. 23 : Structure des ligands H₆DO2P et H₆bpeda-p.

- Influence de la structure du complexe sur la stabilité

Les constantes de protonation des ligands dérivés de la plateforme 1,4,7-triazacyclononane, ainsi que leurs constantes d'affinité pour l'ion Gd(III) (ou l'ion Tb(III) dans le cas du ligand H₃tpatcn) et les pM associés sont récapitulés le Tableau III. 6.

ligand	CN	pKa	M	log K _{ML}	Σ pKa	pM
H ₃ nota ^[b]	6	11.3, 5.6, 2.88	Gd	13.7	19.78	10.7
H ₃ mpatcn ^[a]	7	10.4(1), 5.57(3), 3.89(5), 2.95(3), 2.20(9)	Gd	13.9(2)	19.8(2)	11.8
H ₃ bpatcn ^[a]	8	10.5(2), 5.42(3), 3.71(3), 2.3(2), 2.2(2)	Gd	15.8(2)	19.6(3)	13.6
H ₄ pbpatcn ^[a]	8	10.5(1), 6.2(2), 4.36(8)	Gd	15.4(8)	21.0(4)	13.3
H ₃ tpatcn ^[a]	9	10.8(2), 5.7(2), 3.8(2), 3.0(1), 2.5(2)	Tb	17.4(4)	20.3(6)	14.9
H ₄ edta ^[b]	6	10.19, 6.13, 2.69, 2.60	Gd	17.4	19.01	15.5
H ₄ bpeda ^[c]	8	8.5(1), 5.2(2), 3.5(2), 2.9(1)	Gd	15.1(3)	17.2(5)	14.9

[a] ce travail, [b] référence^[29] [c] référence^[30]

Tableau III. 6 : Valeurs de pKa et des log K_{ML} pour les ligands étudiés et leurs analogues.

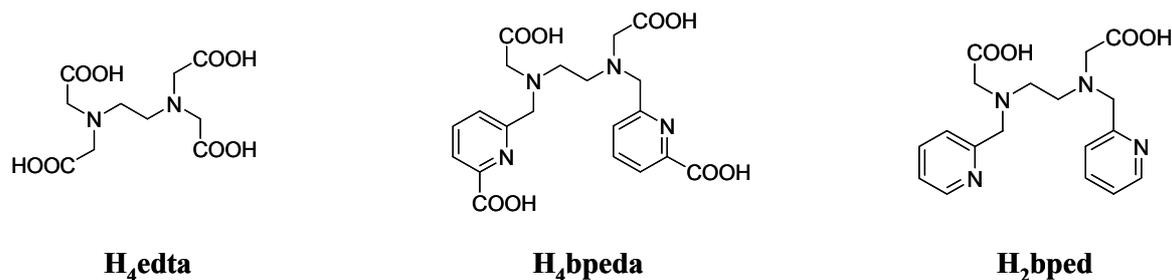


Figure III. 24 : Structure des ligands H₄edta, H₄bpeda et H₂bped.

La somme des trois premiers pKa (\sum pKa) permet de quantifier, avec une bonne approximation, la contribution des effets électrostatiques à la stabilité d'un complexe donné. Aux incertitudes près, cette valeur est identique pour les trois complexes avec des ligands H₃nota, H₃mpatcn et H₃bpatcn. Cependant, en dépit d'une basicité globale similaire, la stabilité du complexe [Gd(bpatcn)] est nettement supérieure à celle du complexe [Gd(nota)] (2.1 unités log). Ceci est lié à la contribution de l'effet chélate généré par la présence de deux azotes donneurs supplémentaires. En effet, l'étude du ligand H₂bped avait permis à P. Caravan et ses collaborateurs d'évaluer la contribution à la stabilité apportée par deux groupements 2-pyridylmethyl à 2.6 unités log.^[31]

Toutefois, nous pouvons noter que les groupements picolinate possèdent un caractère électroattracteur plus marqué que le cycle pyridine. Ainsi, il en résulte une diminution de la basicité de l'azote portant le picolinate. Cette diminution est particulièrement importante dans le cas du ligand H₄bpeda et est à l'origine de la faible constante de stabilité observée. En revanche, pour les ligands cycliques étudiés ici, la diminution est faible et le premier pKa de l'ordre de 10.5. Nous avons vu dans le cas du ligand H₃bpatcn que les protons étaient délocalisés sur l'ensemble des trois azotes du macrocycle. Cette coopérativité est probablement à l'origine des pKa élevés du ligand H₃mpatcn qui possède deux groupements acétate. De plus, cette contribution est d'autant plus importante que le nombre de groupements acétate est élevé. Cependant, des pKa similaires ont été mesurés pour le ligand H₃tpatcn qui ne possède pas de fonction acétate. Dans ce cas, la forte basicité du ligand ne peut être associée qu'à une stabilisation des protons à l'intérieur de la cavité par liaison hydrogène avec les groupements carboxylate. Dans le cas du ligand H₃bpatcn, les deux phénomènes ont probablement lieu simultanément et aucune diminution du premier pKa n'est observée par rapport au ligand H₃mpatcn. La formation de liaisons hydrogènes intramoléculaires a déjà été observée pour plusieurs macrocycles dérivés du cyclam ou du cyclen.^[32] En particulier, J. F. Desreux et ses collaborateurs ont envisagé la formation de liaisons hydrogènes intramoléculaires entre les deux groupements carboxylate non protonés du ligand H₄DOTA et les amines protonées.^[33] Cette suggestion a été confirmée par les études cinétiques réalisées par S. P. Kasprzyk et R. G. Wilkins.^[34]

Considérons maintenant le ligand H₄pbpatcn. En dépit de pKa du ligand plus élevés et de la charge accrue du complexe, le pM calculé reste similaire à celui obtenu pour le ligand analogue H₃bpatcn (13.3 au lieu de 13.6). La diminution de la stabilité du complexe serait plutôt compatible avec une

bonne adaptation du ligand au métal du fait de l'encombrement du groupement phosphonate. L'étude potentiométrique du ligand H₃ebpatcn et de ses complexes n'a pas encore été réalisée. Toutefois, une diminution de la stabilité du complexe [Gd(ebpatcn)(H₂O)] par rapport à son analogue [Gd(bpatcn)(H₂O)] est attendue. En effet, le groupement acétate du ligand bpatcn³⁻ forme un cycle à 5 avec le centre métallique, plus stable que le cycle à 6 formé par le groupement propionate. L'étude du complexe [Gd(DTTA-prop)(H₂O)]²⁻, dérivé du [Gd(DTPA)(H₂O)]²⁻ avec un groupement propionate a été réalisée par S. Laus et al.^[35] Une diminution de la constante de stabilité de 5.8 unités log par rapport au complexe avec le ligand DTPA⁵⁻ a été observée. Toutefois, une augmentation de la sélectivité par rapport au Zn(II) pourrait être attendue.

Les systèmes étudiés ici présentent une stabilité thermodynamique et une sélectivité trop faibles pour s'affranchir de la toxicité liée au relargage de l'ion Gd(III) dans l'organisme.

Cependant, des améliorations pourront être effectuées en modifiant judicieusement les atomes donneurs et/ou l'architecture du ligand. C'est dans ce but que nous nous sommes intéressés à la relation entre la structure du complexe et sa stabilité.

1.3. Etude de la relaxivité

1.3.1. Relaxivité du complexe [Gd(bpatcn)(H₂O)]

Les temps de relaxation longitudinale T₁ des protons de l'eau H₂O en présence de complexe ont été mesurés entre 0.01 MHz et 500 MHz. La relaxivité du complexe [Gd(bpatcn)(H₂O)] est égale à 3.95 mM⁻¹s⁻¹ à 20 MHz et 25°C. Cette valeur est typiquement celle de la relaxivité des petits complexes possédant une seule molécule d'eau dans leur sphère de coordination. Pour comparaison, les relaxivités des complexes [Gd(DTPA)(H₂O)]²⁻ et [Gd(DOTA)(H₂O)]⁻ sont respectivement 4.3 et 4.2 mM⁻¹s⁻¹.^[2] Notre but étant d'observer l'effet des modifications structurales sur la relaxation électronique nous avons déterminé le temps de relaxation électronique T_{1e}.

- Mesures RPE

Des mesures de RPE ont été réalisées au laboratoire du Pr. Merbach, par A. Borel, dans le cadre d'une collaboration avec l'EPF Lausanne. La position des raies et les largeurs pic à pic ont été mesurées aux trois fréquences de la RPE (bande X : 9 GHz, bande Q : 35 GHz et bande W : ~94 GHz).^[36] L'analyse de la position des raies et des largeurs pic à pic en bande Q (1.2 T) puis l'application du modèle de E. Belorisky et P. Fries^[37] ont permis de déterminer le temps de relaxation électronique : T_{1e} = 5.8 ns. Cependant, le caractère non-Laurentzien des pics rend l'interprétation des données multifréquences impossible et empêche la détermination de la relaxation électronique en champ nul. Ce phénomène a été associé soit, à la présence de plusieurs isomères en solution (voir § 1.2.), soit à la décroissance

multi-exponentielle de la relaxation électronique.^[38] Afin de s'affranchir de ces problèmes, la relaxation électronique a été étudiée par RMN ^1H . Une nouvelle méthode de détermination indépendante des différents paramètres gouvernant la relaxivité, dont la relaxation électronique, a été mise au point. Elle est présentée ci-dessous.

- **Nouvelle méthode d'étude de la relaxation électronique par RMN ^1H**

Nous avons vu en introduction les problèmes expérimentaux liés à la détermination du temps de relaxation électronique. De plus, l'interprétation des données est limitée par la validité du modèle théorique Solomon-Bloembergen-Morgan.^[4] La première approximation de la théorie Solomon-Bloembergen-Morgan est celle d'une relaxation mono-exponentielle. Elle n'est valable que si $\omega_s^2 \tau_v^2 \ll 1$ (limite de Redfield).^[39] De plus, seules les fluctuations temporelles de l'hamiltonien de l'éclatement à champ nul (ZFS), dans le repère moléculaire du complexe, sont considérées. Ces fluctuations sont dues essentiellement aux vibrations du complexe, aux réarrangements intramoléculaires et aux collisions avec les molécules de solvant. Cependant, cette description s'est révélée insuffisante pour une complète interprétation des mesures RPE multi champs et multi températures effectuées au laboratoire du Pr. Merbach.^[40] Les données ne peuvent être interprétées qu'en utilisant une nouvelle théorie développée par S. Rast et al.^[41, 42] Cette théorie fait appel à notion de « ZFS statique », qui correspond au champ du ligand dans un repère moléculaire lié rigidement au complexe et qui est modulé par la rotation du complexe dans le repère du laboratoire. Notons que l'importance de la contribution du ZFS statique à la relaxivité de sphère interne avait été reconnue bien plus tôt par les équipes de J. Kowalewski et C. Luchinat dans le cas des ions métalliques de spin $S \geq 1$.^[43] Cette nouvelle description de la relaxation électronique est indispensable pour l'interprétation des données à bas champ. Toutefois, aux champs supérieurs pour lesquels $E_{\text{Zeeman}} \gg E_{\text{ZFS}}$, le modèle simplifié SBM reste valable.^[44, 45]

La nouvelle méthode de détermination indépendante de la relaxation électronique développée au laboratoire est basée sur l'utilisation d'une sonde de type sphère externe, typiquement le *ter*-butanol. En effet, P. H. Fries et E. Belorisky ont montré récemment que l'utilisation d'une sonde moléculaire non-coordinante comme le *ter*-butanol ou le méthanol permet une détermination indépendante du temps de relaxation électronique à champ nul τ_{SO} .^[4] Le *ter*-butanol a été privilégié pour les deux raisons suivantes : (i) c'est une particule pratiquement sphérique ; (ii) ses neuf protons équivalents donnent lieu à un singulet en RMN ^1H de telle sorte que le signal observé en relaxométrie en champ cyclique est important même lorsque la sonde est présente à une concentration de l'ordre de 0.4 M. Cela permet de garder la concentration du *ter*-butanol suffisamment faible pour ne pas perturber la microdynamique du complexe.

Cette méthode permet aussi de déterminer les autres paramètres gouvernant la relaxivité de manière indépendante et d'éviter ainsi les erreurs liées aux ajustements multiples. La méthode se décompose en trois étapes détaillées ci-dessous.^[46, 47]

- Premièrement, la relaxivité en champ nul de la sonde de sphère externe est déterminée. Nous allons voir que τ_{s0} est le seul paramètre ajustable.
- Deuxièmement, le profil NMRD complet de la sonde est ensuite ajusté. τ_{s0} est fixé à la valeur déterminée à l'étape précédente. La théorie de Ayant-Belorizky-Hwang-Freed (ABHF) est utilisée pour la description de la relaxivité de sphère externe. Cet ajustement permet d'accéder au profil de relaxation électronique du complexe (T_{1e}).
- Enfin, le profil NMRD des protons de l'eau est ajusté en tenant compte du profil de T_{1e} préalablement obtenu et des paramètres de sphère interne. τ_m et r_{GDH} sont les seuls paramètres ajustables.

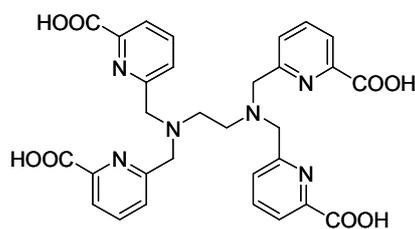
Les expressions utilisées pour la description de la relaxation électronique sont détaillées en Annexe 3.

Les profils NMRD des protons de l'eau et des protons $(CH_3)_3COD$ du *ter*-butanol ont été mesurés entre 0.01 MHz et 500 MHz. Les coefficients de diffusion translationnelle absolus du complexe $[Lu(bpatcn)(D_2O)]$ et du *ter*-butanol ont été mesurés à partir d'une séquence d'échos stimulés : $D^t = 0.37(1) \cdot 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ et $0.57(1) \cdot 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ respectivement. Le diamètre de collision b est estimé à $6.5 \text{ \AA} \pm 10\%$ à partir de modèles moléculaires compacts. L'analyse des données se décompose en trois étapes.

Détermination du temps de relaxation électronique en champ nul

Le temps de relaxation électronique en champ nul est déterminé à partir du diamètre de collision b , du coefficient de diffusion translationnelle relatif du complexe et du *ter*-butanol ($0.94 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$) et du rapport des relaxivités de sphère externe à champ nul (en pratique $3 \cdot 10^{-4} \text{ T}$) et à n'importe quelle valeur de champ élevée (200, 400 ou 500 MHz) (Annexe 3). Une variation de 10 % de la valeur du paramètre b n'influence le temps de relaxation électronique que de 5%. Nous obtenons $\tau_{s0} = 125(6) \text{ ps}$. Cette valeur est significativement plus courte que celle obtenue pour le complexe symétrique analogue $[Gd(tpatcn)]$ (1500 ps). Il est communément admis que des complexes à symétrie élevée peuvent donner lieu à des relaxations électroniques lentes. Par exemple, le temps de relaxation électronique du complexe $[Gd(DOTA)(H_2O)]^-$ de symétrie C_4 est nettement supérieur à son analogue linéaire $[Gd(DTPA)(H_2O)]^{2-}$, possédant une symétrie C_S : $\tau_{s0} = 430 \text{ ps}$ au lieu de $\tau_{s0} = 72 \text{ ps}$.^[2] Cependant, d'autres facteurs peuvent influencer la relaxation électronique. En effet, le temps de relaxation électronique à champ nul du complexe $[Gd(tpatcn)]$ est plus de dix fois supérieur à celui reporté dans la littérature pour le complexe $[Gd(NOTA)(H_2O)_2]$ qui possède également une symétrie C_3 en solution (131 ps).^[11] Cette différence a été attribuée à un champ du ligand exceptionnellement affaibli

par la présence d'un grand nombre d'azotes dans la sphère de coordination du métal. Le remplacement d'une pyridine du ligand tpatcn³⁻ par un groupement carboxylate se traduit par une diminution drastique du temps de relaxation électronique à champ nul. Ce raccourcissement est probablement lié à la perte de symétrie du complexe. Malgré tout, le temps τ_{S0} reste similaire à celui du [Gd(NOTA)(H₂O)₂], ce qui confirme l'influence des azotes des pyridines dans la sphère de coordination. Ces résultats sont confirmés par les mesures RPE : le temps de relaxation électronique du complexe de Gd(III) avec le ligand bpatcn³⁻ est proche de celui du complexe [Gd(DOTA)(H₂O)]⁻ : respectivement 5.8 ns et 7.7 ns. Aussi, la contribution des pyridines a été évaluée par l'étude du complexe de Gd(III) avec le ligand tpaen⁴⁻ qui possède également six azotes donneurs dont quatre noyaux pyridine (Figure III. 25).



H₄tpaen

Figure III. 25 : Structure du ligand H₄tpaen.

Son temps de relaxation électronique a été déterminé par RPE. Une valeur de T_{1e} égale à 3.4 ns, à 1.2T et 25°C, a été reportée.^[36] Pour ces deux complexes de basse symétrie, malgré des atomes donneurs similaires, la relaxation électronique du complexe [Gd(tpaen)]⁻ est beaucoup plus rapide que celle du complexe [Gd(bpatcn)(H₂O)]. Ainsi, la relaxation électronique relativement lente du complexe [Gd(bpatcn)(H₂O)] n'est pas exclusivement liée à la présence des azotes des fonctions picolinate. Il est très probable que le cycle 1,4,7-triazacyclononane crée une symétrie locale autour du centre métallique favorable à la relaxation électronique. En conclusion, le processus de relaxation électronique est sensible à des altérations mineures de la sphère de coordination telles que la symétrie et le champ du ligand. De plus, l'influence de la charge du complexe et de la rigidité du système serait également à étudier.

Interprétation du profil de relaxivité du *ter*-butanol

A partir de cette valeur de τ_{S0} , la relaxivité du *ter*-butanol théorique est ensuite calculée à l'aide des équations I.12 et I.13 vues en introduction. La distance minimale d'approche entre le Gd(III) et les protons (CH₃)₃COH a été estimée à 4.7 Å. Les variations de T_{1e} en fonction de la fréquence sont gouvernées par τ_R (Annexe 3). Le profil de variation de la vitesse de relaxation électronique longitudinale $1/T_{1e}$ est représenté à la Figure III. 26.

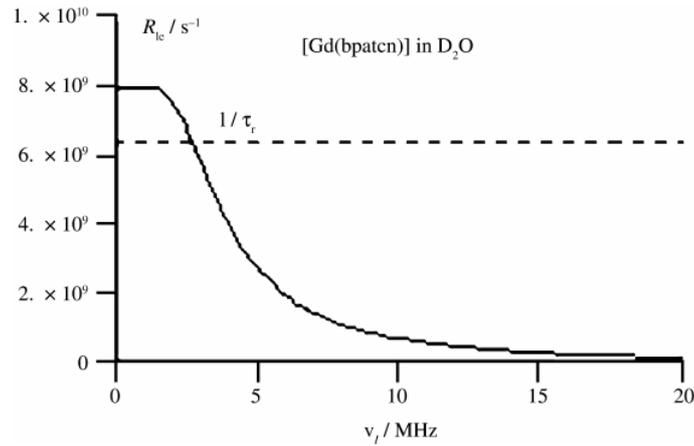


Figure III. 26 : Vitesse de relaxation électronique longitudinale $1/T_{1e}$ en fonction de la fréquence de résonance de proton ν_I .

La valeur de τ_R a été préalablement déterminée par la méthode décrite en introduction. Nous avons vu que les temps de corrélation rotationnelle de deux complexes de structures et de volumes proches sont proportionnels au produit $a_{\text{hyd}}^3 f_R$ où a_{hyd} est le rayon effectif du complexe et f_R le facteur de microviscosité. Le temps de corrélation rotationnelle du complexe $[\text{Gd}(\text{DTPA})(\text{H}_2\text{O})]^{2-}$ dans l'eau H_2O à 25°C ($\tau_R = 65.8$ ms) a été précisément déterminé par une étude RPE multi-champs et multi-températures.^[38] Nous avons mesuré $a_{\text{Gd}(\text{bpatcn})} = 4.8$ Å et $a_{\text{Gd}(\text{dtpa})} = 4.0$ Å. De plus, le rapport des coefficients de microviscosité $f_{R,\text{Gd}(\text{bpatcn})}/f_{R,\text{Gd}(\text{dtpa})}$ est égal à 1.04. En tenant compte du rapport des viscosités $\eta_{\text{D}_2\text{O}}/\eta_{\text{H}_2\text{O}} = 1.24$, nous obtenons le temps de corrélation rotationnelle du complexe $[\text{Gd}(\text{bpatcn})(\text{D}_2\text{O})]$ à 25°C : $\tau_R = 158$ ps. Les profils expérimentaux et théoriques sont représentés ci-dessous (Figure III. 27). L'accord entre la théorie et l'expérience est bon et permet de valider les paramètres de sphère externe du complexe.

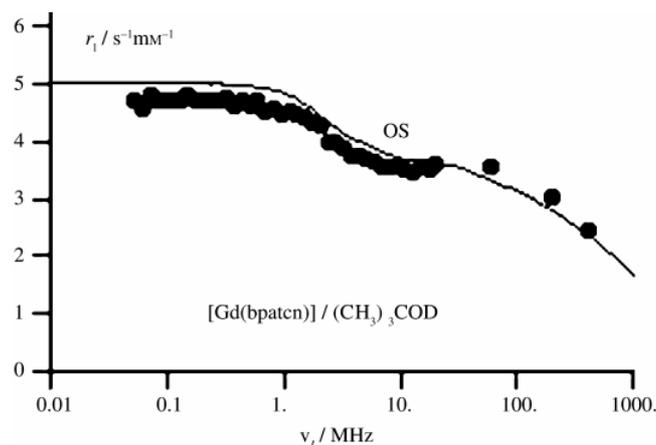


Figure III. 27 : Profils de relaxivité du *ter*-butanol dans une solution de $[\text{Gd}(\text{bpatcn})(\text{D}_2\text{O})]$ dans D_2O :
 ●, expérimental ; —, calculé avec $a_{\text{GdH}} = 4.7$ Å et $\tau_{s0} = 158$ ps.

Interprétation du profil de relaxivité des protons de l'eau

Pour l'analyse du profil des protons de l'eau H_2O , le temps de corrélation rotationnelle du complexe est modifié par le rapport des viscosités $\eta_{\text{D}_2\text{O}}/\eta_{\text{H}_2\text{O}} = 1.24$ de sorte que la valeur utilisée pour cette section est $\tau_{\text{R}} = 127$ ps. Ainsi, le temps de relaxation électronique est recalculé avec cette valeur. De même, le coefficient d'autodiffusion du complexe est $D^{\text{I}} = 0.46 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^2\text{s}^{-1}$, son coefficient de diffusion relatif par rapport à l'eau est $2.75 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^2\text{s}^{-1}$. La distance a_{GdH} est fixée à 4.3 \AA , car la molécule d'eau est plus petite que celle du *ter*-butanol. Le profil est ensuite ajusté avec les paramètres de sphère interne suivants : $q = 1$ (déterminé par les études de luminescence), $r_{\text{GdH}} = 3.23 \text{ \AA}$ et $\tau_{\text{m}} = 2 \text{ \mu s}$ obtenus par ajustement. La distance Gd(III)-proton est en accord avec les distances reportées dans la littérature à partir de données cristallographiques pour ce type de complexes. Le temps de résidence des molécules d'eau en sphère interne τ_{m} a également été déterminé par des mesures de RMN ^{17}O . Le profil NMRD des protons de l'eau et sont ajustement sont représentés Figure III. 28.

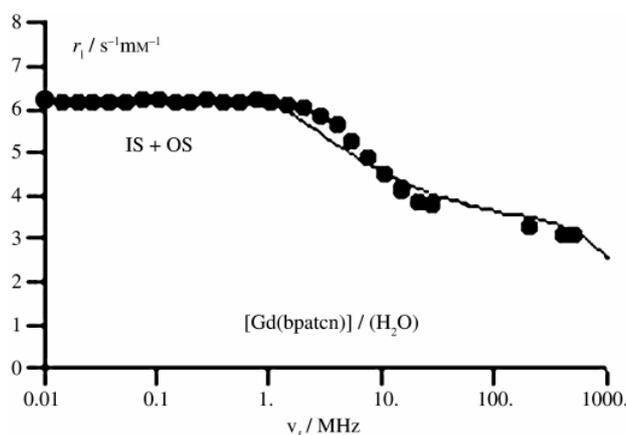


Figure III. 28 : Ajustement théorique du profil expérimental de la relaxivité des protons de l'eau pour une solution de complexe $[\text{Gd}(\text{bpatcn})(\text{H}_2\text{O})]$ avec $q = 1$, $r_{\text{GdH}} = 3.23 \text{ \AA}$ et $\tau_{\text{m}} = 2 \text{ \mu s}$, $\tau_{\text{R}} = 127 \text{ ps}$: ●, expérimental ; __, calculé.

Comparaison avec la théorie SBM

Pour comparer la nouvelle méthode utilisée ici à la théorie SBM plus traditionnelle, nous avons également ajusté le profil de relaxivité longitudinale des protons de l'eau avec les équations de Solomon-Bloembergen-Morgan décrites en introduction (chapitre I, § II.4.). Un bon ajustement entre les données expérimentales et théoriques est obtenu pour les paramètres suivants : $q = 1$, $r_{\text{GdH}} = 3.23 \text{ \AA}$ et $\tau_{\text{m}} = 1.7 \text{ \mu s}$, $\tau_{\text{R}} = 127 \text{ ps}$, $\tau_{\text{S0}} = 130 \text{ ps}$; $\tau_{\text{v}} = 25 \text{ ps}$, $D = 0.94 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^2\text{s}^{-1}$. Nous avons ensuite vérifié si de tels paramètres pouvaient reproduire la relaxivité mesurée pour les protons du *ter*-butanol. Seule la distance a_{GdH} est à ajuster. Le meilleur ajustement est obtenu pour $a_{\text{GdH}} = 4.55 \text{ \AA}$; il est représenté à la Figure III. 29.

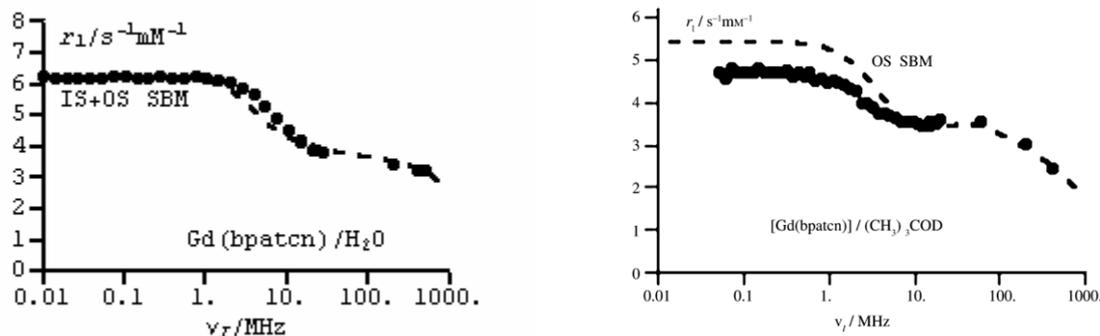


Figure III. 29 : Interprétation de la relaxivité longitudinale avec la théorie SBM pour une solution de complexe $[\text{Gd}(\text{bpatcn})(\text{D}_2\text{O})]$: \bullet , expérimental ; --- , calculé. A gauche, dans H_2O : $q = 1$, $r_{\text{GdH}} = 3.23 \text{ \AA}$ et $\tau_m = 1.7 \text{ \mu s}$, $\tau_R = 127 \text{ ps}$, $\tau_{S0} = 130 \text{ ps}$; $\tau_v = 25 \text{ ps}$, $D = 0.94 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$. A droite, $(\text{CH}_3)_3\text{COD}$ dans D_2O à 25°C . avec $a_{\text{GdH}} = 4.55 \text{ \AA}$, $\tau_{S0} = 130 \text{ ps}$ et $\tau_v = 25 \text{ ps}$.

Nous remarquons d'une part, que la distance $a_{\text{GdH}} = 4.55 \text{ \AA}$ est incompatible avec la taille de la molécule de *ter*-butanol, plus grosse et d'autre part, que le modèle de relaxation électronique utilisé pour reproduire avec succès la relaxivité de l'eau ne permet pas une bonne estimation de la relaxivité du *ter*-butanol à bas champ. Cet exemple met en évidence les inexactitudes du modèle SBM qui ne prend pas en compte tous les processus de relaxation électronique.

L'ajustement des données a permis d'estimer la valeur du temps de résidence τ_m des molécules d'eau dans la première sphère de coordination du complexe, environ 2 \mu s . Il faut noter que l'incertitude associée à ce paramètre est importante. En effet, la vitesse d'échange de l'eau n'a qu'une influence mineure sur la relaxivité pour les petits complexes et dans ce cas, des ajustements valables ont été obtenus pour des valeurs de τ_m comprises entre 1 \mu s et 4 \mu s . Une valeur plus précise a été déterminée par l'étude des temps de relaxation transversaux des protons de ^{17}O de l'eau enrichie. Cette étude a été réalisée par le Dr. A. Borel à l'EPF de Lausanne. Un temps de résidence égal à 1.7 \mu s à 25°C ($k_{\text{ex}} = 0.6 \cdot 10^6 \text{ s}^{-1}$) a été déterminé. Cette valeur est comparable à celle de l'agent de contraste commercial $[\text{Gd}(\text{DTPA-BMA})(\text{H}_2\text{O})]$ ($\tau_m = 2.2 \text{ \mu s}$, $k_{\text{ex}} = 0.45 \cdot 10^6 \text{ s}^{-1}$) dont la vitesse d'échange est nettement inférieure à la vitesse d'échange optimale prédite par la théorie (10^8 s^{-1}).^[1] Ainsi, si le complexe $[\text{Gd}(\text{bpatcn})(\text{H}_2\text{O})]$ possède des propriétés de relaxation électronique favorables à son utilisation pour le développement d'agents de contraste macromoléculaires, sa vitesse d'échange est trop lente. Les ligands $\text{H}_3\text{ebpatcn}$ et $\text{H}_4\text{pbpatcn}$ (Figure III. 3) ont été développés dans le but d'accéder à des complexes ayant à la fois une cinétique d'échange d'eau rapide et une relaxation électronique lente. Reste à savoir si les deux objectifs vont être atteints simultanément étant donné que les moindres modifications de la sphère de coordination peuvent affecter les paramètres influençant la relaxivité.

I.3.2. Relaxivité des complexes $[\text{Gd}(\text{ebpatcn})(\text{H}_2\text{O})]$ et $[\text{Gd}(\text{pbpatcn})(\text{H}_2\text{O})]^-$

Tout comme le complexe $[\text{Gd}(\text{bpatcn})(\text{H}_2\text{O})]$, les agents de contraste commerciaux possèdent une vitesse d'échange au moins dix fois inférieure à la valeur optimale de 10^8 s^{-1} . Récemment, plusieurs stratégies ont été développées afin d'accélérer leur vitesse d'échange. Tout d'abord, le groupe du Pr. A. Merbach a montré que la vitesse d'échange des complexes avec des ligands dérivés du DOTA^{4-} et du DTPA^{5-} était accélérée par l'augmentation de l'encombrement stérique à proximité du Gd(III) .^[35] Cette observation est à mettre en relation avec les mécanismes d'échange dissociatifs (D, ou I_d , Chapitre I, § II.4.3.) pour ces complexes impliquant deux espèces nona- et octa-coordinées. L'étape limitante de dissociation de la molécule d'eau est favorisée par une gêne stérique importante. Par exemple, le ligand H_5EPTPA est obtenu en remplaçant un pont éthylène du corps diéthylène triamine du $\text{H}_5\text{DTPA}^{5-}$ par un groupement propylène. De même, le ligand $\text{H}_5\text{DTTA-prop}$ est obtenu par substitution d'un acétate terminal par un groupement propionate (Figure III. 30).

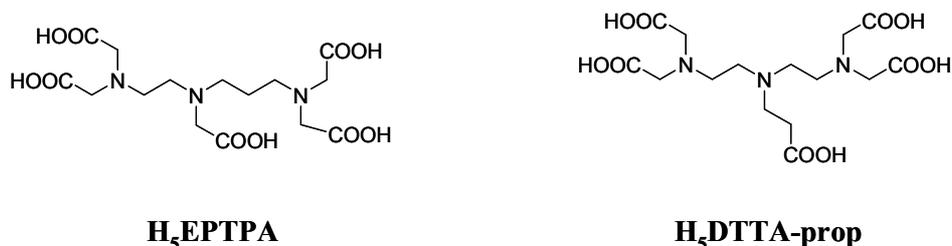


Figure III. 30 : Vers des complexes à vitesse d'échange rapide : ligands dérivés du ligand H_5DTPA .

La vitesse d'échange des complexes de Gd(III) a été mesurée par RMN ^{17}O . Les constantes k_{ex} sont respectivement $330 \cdot 10^6 \text{ s}^{-1}$ et $31 \cdot 10^6 \text{ s}^{-1}$ au lieu de $3.3 \cdot 10^6 \text{ s}^{-1}$ pour le complexe $[\text{Gd}(\text{DTPA})(\text{H}_2\text{O})]^{2-}$.

Des effets similaires ont été observés en remplaçant un carboxylate des ligands DOTA^{4-} ^[48] et DTPA^{5-} ^[25] par un groupement phosphonate, dû à l'encombrement stérique accru. En effet, des études cristallographiques sur une série de complexes de Ln(III) avec des ligands phosphinate ont permis d'interpréter cet encombrement stérique en terme d'une augmentation de l'angle de liaison N-M-O pour les dérivés phosphinate par rapport à leurs analogues carboxylate.^[99] Trois exemples de ligands sont représentés ci-dessous (Figure III. 31).

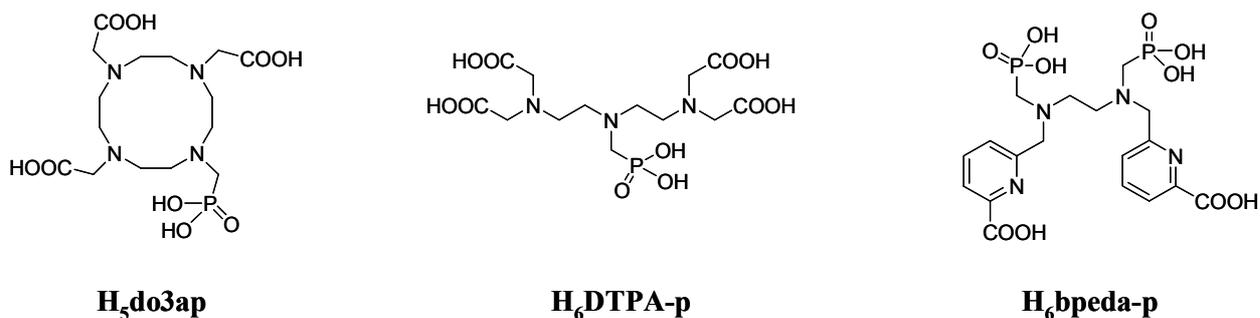


Figure III. 31 : Exemple de ligands incorporant des unités phosphonate.

Les vitesses d'échange de l'eau en sphère interne des complexes $[\text{Gd}(\text{do3ap})]^{2-}$ et $[\text{Gd}(\text{DTPA-p})]^{3-}$ ont été mesurées par RMN ^{17}O . Les valeurs de k_{ex} sont respectivement $\sim 76 \cdot 10^6 \text{ s}^{-1}$ et $14 \cdot 10^6 \text{ s}^{-1}$, à comparer avec $4.1 \cdot 10^6 \text{ s}^{-1}$ et $3.3 \cdot 10^6 \text{ s}^{-1}$ pour les complexes de DOTA^{4-} et de DTPA^{5-} .

De plus, nous pouvons noter que le complexe de $\text{Gd}(\text{III})$ avec le ligand $\text{H}_6\text{bpeda-p}$ possède la vitesse d'échange la plus rapide mesurée à ce jour. La valeur de $k_{\text{ex}} = 7.0 \cdot 10^8 \text{ s}^{-1}$, proche de la vitesse d'échange optimale, est similaire à celle de l'ion $\text{Gd}(\text{III})\text{-aqua}$.^[27, 49] Cette vitesse d'échange particulièrement rapide a été attribuée à une sphère de coordination particulièrement flexible qui facilite la réorganisation du ligand lors du passage de l'espèce hydratée $[\text{Gd}(\text{bpeda-p})(\text{H}_2\text{O})]^{3-}$ à l'espèce non-hydratée $[\text{Gd}(\text{bpeda-p})]^{3-}$.

Au vu de ces résultats, les complexes de $\text{Gd}(\text{III})$ avec les ligands $\text{H}_3\text{ebpatcn}$ et $\text{H}_4\text{pbpatcn}$ pour lesquels le groupement acétate du ligand H_3bpatcn a été remplacé par des groupements propionate et phosphonate (Figure III. 3), devraient présenter un encombrement stérique accru et de ce fait, un échange rapide.

La relaxivité des protons HOD des solutions des complexes $[\text{Gd}(\text{ebpatcn})(\text{D}_2\text{O})]$ et $[\text{Gd}(\text{pbpatcn})(\text{D}_2\text{O})]^-$ dans D_2O a été mesurée à 45 MHz et 25°C. Les temps de relaxation des protons ainsi que la relaxivité associée sont rassemblées dans le Tableau III. 7.

	$[\text{Gd}(\text{ebpatcn})(\text{D}_2\text{O})]$	$[\text{Gd}(\text{pbpatcn})(\text{D}_2\text{O})]^-$
C_{GdL} (mM)	4.00	4.33
T_1 (ms)	53.40	50.80
T_2 (ms)	43.93	42.79
r_1 ($\text{mM}^{-1} \text{ s}^{-1}$)	4.68	4.55
r_2 ($\text{mM}^{-1} \text{ s}^{-1}$)	5.69	5.40

Tableau III. 7 : Relaxivités longitudinales et transversales des complexes $[\text{Gd}(\text{ebpatcn})(\text{D}_2\text{O})]$ et $[\text{Gd}(\text{pbpatcn})(\text{D}_2\text{O})]^-$ dans D_2O à 45 MHz et 25°C.

La relaxivité dans l'eau légère peut être calculée à partir de celle d'une solution dans D_2O en tenant compte du facteur de viscosité $\eta_{\text{D}_2\text{O}}/\eta_{\text{H}_2\text{O}} = 1.24$. Les valeurs de relaxivité correspondantes sont donc $3.77 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ pour le complexe avec le ligand ebpatcn^{3-} et $3.67 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ pour celui avec le ligand pbpatcn^{4-} . Une relaxivité de $3.7 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ environ a été déterminée pour le complexe analogue $[\text{Gd}(\text{bpatcn})(\text{D}_2\text{O})]$ à 45 MHz, 25°C dans H_2O . Cette valeur est cohérente avec la présence d'une molécule d'eau dans la sphère de coordination du complexe.

La vitesse d'échange des complexes a été déterminée à partir de la mesure des temps de relaxation transversale de l' ^{17}O (Annexe 2). Les mesures réalisées dans le cadre de ce travail ont fait l'objet d'une collaboration avec le Pr. L. Helm à l'EPF Lausanne. Elles ont été réalisées sur une gamme de

températures allant de -1°C à 75°C . Les profils de relaxivités longitudinale et transversale en fonction de la température sont représentés Figure III. 32.

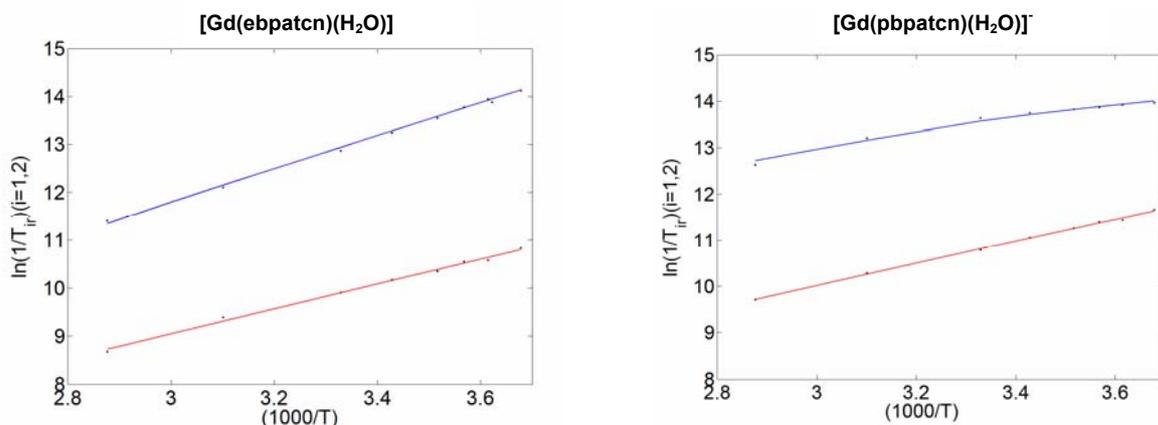


Figure III. 32 : Vitesses de relaxation longitudinales (en rouge) et transversales (en bleu) de l' ^{17}O en fonction de la température. A gauche : complexe $[\text{Gd}(\text{ebpatcn})(\text{H}_2\text{O})]$, à droite : $[\text{Gd}(\text{pbpatcn})(\text{H}_2\text{O})]^{-}$ (fit 2).

Dans les conditions utilisées (20 mM, $q = 1$), le déplacement paramagnétique mesuré $\Delta\omega$ est faible ($80 < \Delta\omega < 90\text{Hz}$) par rapport à la largeur du signal RMN de l' ^{17}O ($50 < \Delta\nu < 250\text{Hz}$). De ce fait, il en résulte une erreur expérimentale importante sur la détermination du déplacement paramagnétique $\Delta\omega$ qui ne sera pas pris en compte pour ces composés. Ainsi, les différents paramètres seront obtenus par ajustement simultané des courbes de variation des relaxivités longitudinale et transversale. Leurs valeurs sont rassemblées dans le tableau ci-dessous ; les valeurs en gras sont fixées.

	[Gd(ebpatcn)(H ₂ O)]	[Gd(pbpatcn)(H ₂ O)] ⁻	
		<i>Fit 1</i>	<i>Fit 2</i>
ΔH [kJ/mol]	32.2 ± 3.2	6.4 ± 5	24.5
k_{ex}^{298} [10^6 s^{-1}]	85.5 ± 25	86.7 ± 13	40.16
E_r [kJ/mol]	21.5 ± 1	20.4 ± 0.6	23.6
τ_R^{298} [ps]	126.5 ± 4	318.4 ± 10	130
E_v [kJ/mol]	3.0 ± 3	54.9 ± 54	1.0
τ_v^{298} [ps]	(1.01)	(11.0)	(1.00)
A/h [10^6 rad/s]	-3.4 (4)	-3.8	-3.8
C_{out}	0	0	0
r_{GdO} [Å]	2.5	2.5	2.5
$\tau_{r(\text{HW})}/\tau_{r(\text{OW})}$	1	1	1
Δ^2 [10^{20} s^{-2}]	(0.39)	(0.4)	(0.34)
$\chi(1+\eta^{2/3})^{1/2}$ [MHz]	7.58	7.58	7.58
q	1	1	1

Tableau III. 8 : Paramètres obtenus par ajustement des mesures RMN ^{17}O pour les complexes $[\text{Gd}(\text{ebpatcn})(\text{H}_2\text{O})]$ et $[\text{Gd}(\text{pbpatcn})(\text{H}_2\text{O})]^{-}$. Les valeurs en gras ont été fixées pendant l'ajustement.

Le nombre de molécule d'eau q a été estimé à partir des mesures de relaxivité ; les autres paramètres ont été fixés aux valeurs reportées dans la littérature : les distances entre le Gd(III) et l'oxygène (r_{GdO}) ou le proton (r_{GdH}) sont respectivement fixées à 2.5 Å et 3.1 Å. La valeur de la constante de couplage quadrupolaire $\chi(1+\eta^{2/3})^{1/2}$ est fixée à celle de l'eau acidifiée (7.58 MHz). Des constantes de couplage hyperfin de l'ordre de $-4 \cdot 10^6$ à $-3.3 \cdot 10^6$ ont été reportées dans la littérature. Dans le cas du complexe [Gd(pbpatcn)(H₂O)], elle a été fixée à la valeur la plus fréquemment obtenue selon la littérature, c'est-à-dire $-3.8 \cdot 10^6 \text{ rad s}^{-1}$.^[50] La contribution de sphère externe C_{out} a été fixée à 0.

Afin de pouvoir porter un regard objectif sur les différents paramètres obtenus par ajustement des données, il est indispensable de prendre en compte les différentes approximations liées à la méthode et au modèle utilisé. L'ajustement des données est basé sur la théorie Solomon-Bloembergen-Morgan qui utilise une description simplifiée de la relaxation électronique tenant compte uniquement des fluctuations du ZFS transitoire. Or, nous avons vu qu'une description rigoureuse de la relaxation électronique n'était possible qu'en ajoutant une contribution statique du ZFS. Ainsi, les paramètres τ_v et Δ^2 déterminés ici sont représentatifs uniquement de la relaxation électronique aux champs élevés ($> 2.5 \text{ T}$) et peuvent conduire à des relaxations électroniques aberrantes à bas champ. De plus, les deux paramètres étant fortement corrélés, des expériences multi-champs sont indispensables à leur détermination précise. Au vu des l'Equations III.2 et III.3, la valeur de T_{1e} n'affecte pas les valeurs de $1/T_{im}$ ($i = 1,2$) si $T_{1e} \gg \tau_m$ de sorte que la relaxation électronique n'a pas besoin d'être ajustée précisément si elle est suffisamment lente.

$$\frac{1}{T_{1m}} = \left[\frac{1}{15} \left(\frac{\mu_0}{4\pi} \right) \frac{\hbar^2 \gamma_I^2 \gamma_S^2}{r_{GdO}^6} S(S+1) \right] \times 6\tau_{d1} + \frac{3\pi^2}{10} \frac{2I+3}{I^2(2I-1)} \chi^2 \left(1 + \frac{\eta^2}{3} \right) \tau_R \quad \text{Equation III. 2}$$

$$\frac{1}{\tau_{d1}} = \frac{1}{T_{1e}} + \frac{1}{\tau_R} + \frac{1}{\tau_m} \quad (i = 1,2) \quad \text{Equation III. 3}$$

En revanche, dans le cas d'une relaxation électronique très rapide (ou d'une vitesse d'échange lente), $T_{1e} \ll \tau_m$ et une détermination précise de la relaxation électronique est indispensable à la détermination exacte de τ_m . De même, F. A. Dunand et ses collaborateurs ont montré que la valeur de τ_R ne pouvait être déterminée avec précision que si $T_{1e} \gg \tau_R$ (Annexe 2).^[51]

L'ajustement des courbes de mesures avec le complexe [Gd(ebpatcn)(H₂O)] ne pose pas de problème particulier. La valeur de l'enthalpie d'activation ΔH est similaire à celle reportée pour le complexe [Gd(DTTA-prop)(H₂O)]²⁻ (30.8 kJ mol^{-1}). La constante de couplage scalaire A/\hbar est similaire à celles reportées dans la littérature pour les autres complexes octaédriques.^[25, 50] Le temps de corrélation rotationnelle est identique à la valeur déterminée pour le complexe [Gd(bpatcn)(H₂O)] par la mesure de son rayon hydrodynamique (127 ps) ; son énergie d'activation E_r est similaire aux valeurs obtenues dans la littérature. Ce résultat était attendu car d'une part les poids moléculaire des deux complexes

sont voisins et d'autre part, leurs architectures étant très proches, on attend des rayons hydrodynamiques similaires pour les deux complexes. Les paramètres Δ^2 , E_v et par τ_v sont obtenus en considérant la description de la relaxation électronique par la théorie SBM : τ_v est le temps de corrélation associé aux vibrations du complexe et Δ^2 est l'amplitude du ZFS transitoire et dépend du champ du ligand. Afin d'obtenir des valeurs raisonnables, c'est-à-dire qui ne conduisent pas à une description électronique aberrante à bas champ, nous avons considéré les plages de variations suivantes : $1 \leq \tau_v \leq 5$ ps et $0.1 \leq \Delta^2 \leq 0.4 \cdot 10^{20} \text{ s}^{-2}$. Cependant, ces valeurs étant issues de l'analyse des données à un seul champ, elles sont données uniquement à titre indicatif. Pour une meilleure description de la relaxation électronique des systèmes, il faudrait recourir à la méthode relaxométrique utilisant une sonde de sphère externe décrite au paragraphe précédent (§ I.3.1.).

Le traitement des données du complexe $[\text{Gd}(\text{pbpatcn})(\text{H}_2\text{O})]^-$ est plus problématique. Un premier ajustement simultané des vitesses de relaxations réduites longitudinale et transversale a été réalisé (Fit 1). Les paramètres obtenus sont rassemblés dans le Tableau III. 8. L'analyse a été effectuée de manière similaire à celle du complexe $[\text{Gd}(\text{ebpatcn})(\text{H}_2\text{O})]$. Les résultats du fit 1 donnent une description erronée du système. Premièrement, le temps de corrélation rotationnelle τ_R est particulièrement élevé. En effet, nous pouvons considérer en première approximation que les valeurs de τ_R de deux complexes d'architectures voisines comme le $[\text{Gd}(\text{bpatcn})(\text{H}_2\text{O})]$ et son dérivé $[\text{Gd}(\text{pbpatcn})(\text{H}_2\text{O})]^-$, sont proportionnelles à leur poids moléculaire. Ainsi une valeur autour de 130 ps est attendue pour le complexe avec le ligand pbpatcn⁴. Certes, le mouvement de rotation du complexe peut être ralenti par la présence d'une charge négative. Cependant, dans le cas du complexe $[\text{Gd}(\text{DOTA})(\text{H}_2\text{O})]^-$ et de son analogue $[\text{Gd}(\text{do3ap})(\text{H}_2\text{O})]^{2-}$ (Figure III. 31) l'effet du phosphonate n'excède pas 50% alors qu'une augmentation de 150% est observée ici.^[48] Aussi, l'étude du complexe $[\text{La}(\text{bpeda-p})(\text{H}_2\text{O})]^{3-}$ (Figure III. 31) par RMN ²H a permis une mesure indépendante du temps de corrélation du complexe $[\text{Gd}(\text{bpeda-p})(\text{H}_2\text{O})]^{3-}$ ($\tau_R = 155$ ps).^[27] La valeur de τ_R trouvée ici est donc beaucoup trop grande ! Deuxièmement, les paramètres de relaxation électronique E_v , τ_v et Δ^2 ne peuvent être ajustés dans les plages de variations $1 \leq \tau_v \leq 5$ ps et $0.1 \leq \Delta^2 \leq 0.4 \cdot 10^{20} \text{ s}^{-2}$. Ce phénomène sous-entend une relaxation électronique rapide. De plus, nous venons de voir que le temps de corrélation rotationnelle ne pouvait être déterminé précisément par cette méthode que si T_{1e} était largement supérieur à τ_R . De ce fait, nous avons décidé de fixer la valeur du temps de corrélation rotationnelle à 130 ps et de n'ajuster que la vitesse de relaxation transversale du complexe (fit 2). Les données sont en accord avec une cinétique d'échange rapide. En première approximation, nous obtenons une vitesse d'échange k_{ex} de l'ordre de $40 \cdot 10^6 \text{ s}^{-1}$. Cette valeur est intermédiaire entre les vitesses observées pour le complexe $[\text{Gd}(\text{DTPA-p})(\text{H}_2\text{O})]^{3-}$ ($k_{ex} = 14 \cdot 10^6 \text{ s}^{-1}$) et le complexe $[\text{Gd}(\text{do3ap})(\text{H}_2\text{O})]^{2-}$ ($k_{ex} = 80 \cdot 10^6 \text{ s}^{-1}$) (Figure III. 31). Une détermination plus rigoureuse des paramètres τ_R et k_{ex} devrait être obtenue par l'analyse des mesures RMN ¹H à haut champ en présence

d'une sonde de type CH_3OD . Une nouvelle méthode d'interprétation sera décrite au § II.3.1. Notons que des difficultés similaires ont déjà été rencontrées par l'équipe de K. Raymond pour l'ajustement des données obtenues avec les complexes $[\text{Gd}(\text{TREN-Me-3,5-HOPOTAM})]^-$ et $[\text{Gd}(\text{TREN-Me-3,2-HOPOBAC})]^-$ présentant une relaxation électronique rapide.^[52]

La relaxation électronique des deux complexes $[\text{Gd}(\text{ebpatcn})(\text{H}_2\text{O})]$ et $[\text{Gd}(\text{pbpatcn})(\text{H}_2\text{O})]^-$ n'a pas été déterminée. Toutefois, l'allure des profils NMRD permet une description qualitative des systèmes. En effet, le groupe de A. Merbach a souligné que, dans l'hypothèse d'un temps de relaxation électronique infini, le rapport des relaxivités à champ nul et champ moyen vaut une valeur constante égale à $10/3$.^[1] Ainsi, un affaiblissement de la relaxivité à bas champ par rapport à cette valeur de référence est caractéristique d'une relaxation électronique rapide qui, de plus, est d'autant plus rapide que la relaxivité à bas champ est faible. Dans un premier temps, nous préférons nous contenter d'une description qualitative de la relaxation électronique plutôt que de la déterminer approximativement par des méthodes d'ajustement.

L'hypothèse d'une relaxation électronique rapide pour le complexe $[\text{Gd}(\text{pbpatcn})(\text{H}_2\text{O})]^-$ est vérifiée par l'allure de son profil NMRD. Les profils NMRD des protons HOD ont été mesurés entre 0.01 MHz et 35 MHz pour des solutions de complexes $[\text{Gd}(\text{ebpatcn})(\text{H}_2\text{O})]$ et $[\text{Gd}(\text{pbpatcn})(\text{H}_2\text{O})]^-$ dans D_2O . Ils sont représentés Figure III. 33.

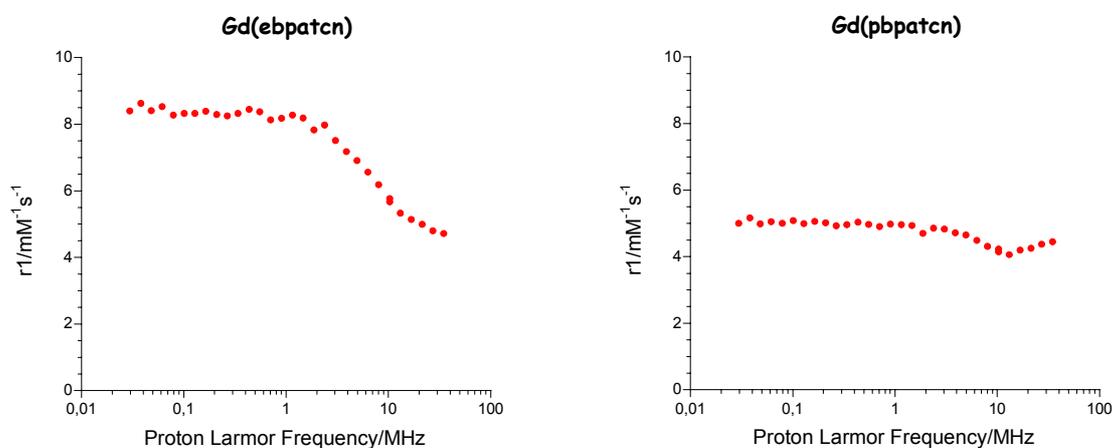


Figure III. 33 : Profils expérimentaux de la relaxivité des protons HOD pour des solutions de complexe de Gd(III) dans D_2O avec les ligands : ebpatcn³⁻, à gauche et pbpatcn⁴⁻, à droite.

Le profil du complexe $[\text{Gd}(\text{ebpatcn})(\text{H}_2\text{O})]$ est analogue à celui du complexe $[\text{Gd}(\text{bpatcn})(\text{H}_2\text{O})]$ (Figure III. 28) : le rapport des relaxivités à 0.1 MHz et à 15 MHz (R) vaut 1.8 à comparer avec 1.9 pour le complexe de bpatcn³⁻. En revanche, la relaxivité du complexe $[\text{Gd}(\text{pbpatcn})(\text{H}_2\text{O})]^-$ est très peu dépendante du champ. Un rapport de 1.25 seulement est mesuré, en accord avec une relaxation électronique extrêmement rapide. Une relaxation électronique aussi rapide n'a encore jamais été reportée dans la littérature. Toutefois, l'analyse qualitative du profil NMRD du complexe $[\text{Gd}(\text{TREN-Me-3,2-HOPOTAM})]^-$ développé par Raymond et al, indique un rapport de 1.3 entre les relaxivités à

0.1 MHz et à 15 MHz.^[52] La relaxation électronique rapide est liée à l'existence d'un ZFS important, probablement corrélé à l'introduction du groupement phosphonate dans la sphère de coordination. Une accélération de la relaxation électronique, somme toute assez faible, avait été observée pour le complexe $[\text{Gd}(\text{bpeda-p})(\text{H}_2\text{O})]^{3-}$ ($R = 1.4$)^[27] par rapport à son analogue non phosphorylé $[\text{Gd}(\text{bpeda})(\text{H}_2\text{O})]^{3-}$ qui possède déjà une relaxation électronique très rapide ($R = 1.5$). Dans le cas du complexe $[\text{Gd}(\text{pbpatcn})(\text{H}_2\text{O})]^{3-}$, les mesures RMN ^1H ont montré une grande rigidité de la sphère de coordination. Aussi, il est fort probable que celle-ci soit beaucoup plus distordue dans le cas du ligand pbpatcn^{4-} qu'avec le ligand bpatcn^{3-} . Ces distorsions pourraient être à l'origine de la rupture de la symétrie locale du 1,4,7-triazacyclononane. L'obtention de structures à l'état solide des complexes $[\text{Gd}(\text{bpatcn})(\text{H}_2\text{O})]^{3-}$ et $[\text{Gd}(\text{pbpatcn})(\text{H}_2\text{O})]^{3-}$ devrait permettre une première comparaison de la géométrie des sphères de coordination des deux complexes. Malheureusement, étant la forte solubilité de ces systèmes, aucun cristal de qualité suffisante pour l'analyse aux rayons X n'a pu être obtenu.

En conclusion, le complexe de Gd(III) avec le ligand bpatcn^{3-} possède une relaxation électronique relativement lente aux champs des imageurs IRM actuels (1.2 T). Celle-ci est donc favorable à son incorporation dans des systèmes macromoléculaires conduisant au développement d'agents de contraste spécifiques ou à relaxivité accrue. Cependant, la vitesse d'échange de l'eau dans sa première sphère de coordination est limitante. Des ligands dérivés du bpatcn^{3-} possédant une gêne stérique accrue au niveau du bras carboxylate (due à l'augmentation de la chaîne carbonée ou à l'introduction d'un groupement phosphonate) ont été développés. Leurs complexes, $[\text{Gd}(\text{ebpatcn})(\text{H}_2\text{O})]^{3-}$ et $[\text{Gd}(\text{pbpatcn})(\text{H}_2\text{O})]^{3-}$ possèdent une vitesse d'échange de l'eau en première sphère de coordination rapide. Les résultats préliminaires indiquent que, si la relaxation électronique du complexe $[\text{Gd}(\text{ebpatcn})(\text{H}_2\text{O})]^{3-}$ est similaire à celle du $[\text{Gd}(\text{bpatcn})(\text{H}_2\text{O})]^{3-}$, une forte diminution du temps de relaxation électronique est observée dans le cas du $[\text{Gd}(\text{pbpatcn})(\text{H}_2\text{O})]^{3-}$. La présence d'un groupement phosphonate, chargé négativement, dans la sphère de coordination du métal est probablement l'une des causes de cette diminution.

Ainsi, pour cette série de complexes mono-aqua, l'étude des modulations de la sphère de coordination du métal sur la relaxivité des complexes de Gd(III), associée au développement de méthodes adéquates a conduit à une optimisation simultanée des paramètres T_{1e} et k_{ex} . Après optimisation du temps de corrélation rotationnelle τ_R , cette architecture est susceptible de conduire à des complexes présentant une relaxivité élevée aux champs de l'IRM clinique actuels (0.5 à 1.5 T).

II. Chélates de Gd(III) bis- et tris-aqua

L'augmentation du temps de corrélation rotationnelle du complexe ou de la vitesse d'échange n'est pas suffisante pour accéder à des relaxivités élevées aux champs des nouveaux imageurs IRM (7 T - 9.4 T). Une autre stratégie doit donc être utilisée. En particulier, nous avons vu que l'augmentation du nombre de molécules d'eau dans la première sphère de coordination des complexes conduit à une relaxivité accrue aux champs d'imagerie classiques mais aussi aux champs forts. C'est pourquoi nous avons également étudié des systèmes incorporant deux voire trois molécules d'eau dans leur première sphère de coordination. C'est à ces systèmes que nous allons nous intéresser dans la partie suivante.

Un exemple de complexe bis-aqua a été précédemment étudié au laboratoire : le complexe $[\text{Gd}(\text{tpaa})(\text{H}_2\text{O})_2]$ dont la structure du ligand est représentée Figure III. 34. Il possède une relaxivité élevée.^[21] Cependant, l'étude des différents facteurs à l'origine de cette relaxivité élevée n'a pu être réalisée du fait de la très faible solubilité du complexe dans l'eau. Ainsi, deux nouveaux ligands tripodes dérivés du ligand H_3tpaa ont été synthétisés (Figure III. 34).

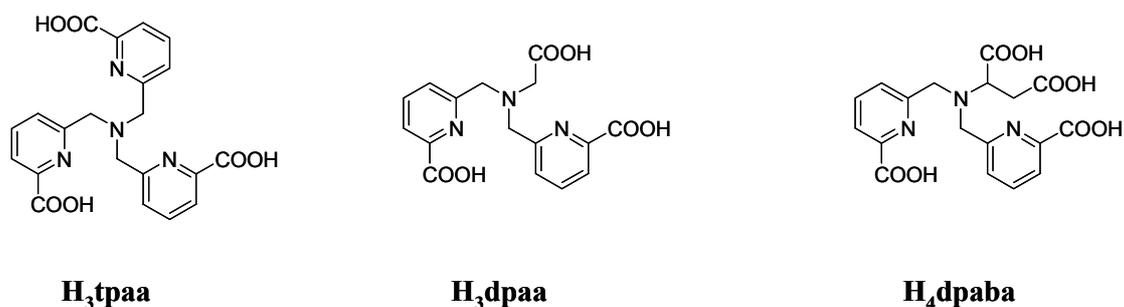


Figure III. 34 : Structure des ligands H_3dpaa et H_4dpaba .

De nouveaux critères doivent être pris en compte pour le design et l'évaluation des complexes possédant un nombre d'hydratation supérieur à un. D'une part, une diminution de la stabilité thermodynamique et cinétique est souvent engendrée par la diminution du nombre de fonctions coordonnantes. D'autre part, le gain de relaxivité peut être annihilé par la coordination de substrats endogènes susceptibles de déplacer une ou plusieurs molécules d'eau. Ainsi, la coordination des anions endogènes (lactate, malonate, carbonate, phosphate,...) et/ou des acides carboxyliques des chaînes latérales des protéines (glutamines et asparagines) devra être envisagée. L'un des exemples les plus anciens est le complexe $[\text{Gd}(\text{EDTA})(\text{H}_2\text{O})_3]$: il est toxique ($\log K_{\text{GdL}} = 17.4$) et forme des complexes ternaires avec les anions endogènes bivalents (carbonate, phosphate), conduisant à une forte diminution de la relaxivité.^[53] Différentes architectures ont été étudiées afin d'optimiser la stabilité du complexe et de limiter la coordination des substrats.

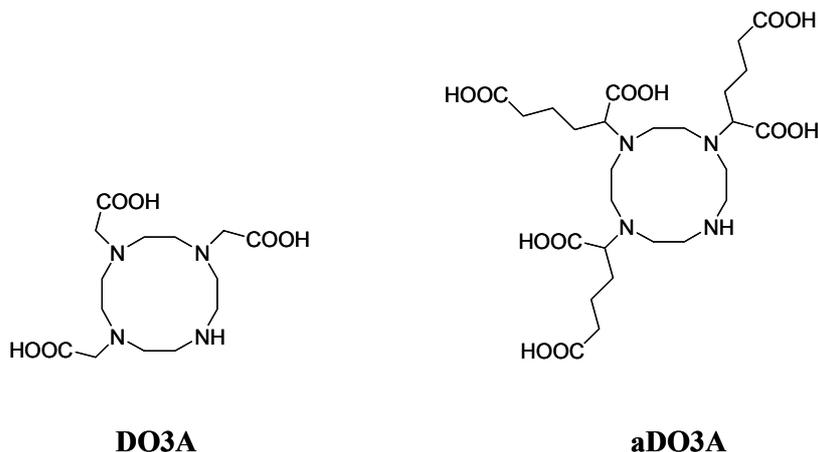
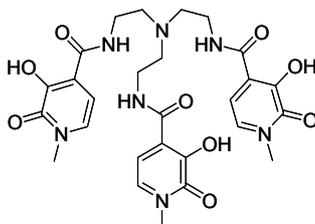


Figure III. 35 : Structure du ligand DO3A et du dérivé aDO3A.

Les complexes avec le ligand DO3A et ses dérivés ont été largement étudiés (Figure III. 35).^[54-56] Le principal inconvénient de ce type d'architecture réside dans leur forte interaction avec les différents substrats. En effet, les deux molécules d'eau du complexe $[\text{Gd}(\text{DO3A})(\text{H}_2\text{O})_2]$ sont déplacées par les anions bidentes malonate et lactate et une seule par le carbonate et le phosphate. Les constantes d'affinité des anions pour plusieurs complexes dérivés du $[\text{Gd}(\text{DO3A})(\text{H}_2\text{O})_2]$ ont été déterminées. Des différences importantes sont observées suite à de légères modifications structurales (N-méthylation par exemple).^[57] De plus, D. Parker et ses collaborateurs ont montré que l'affinité des anions pouvait être diminuée par répulsion électrostatique. Le complexe anionique $[\text{GdaDO3A}]^{3-}$ incorporant trois chaînes carboxylate a été synthétisé dans ce sens (Figure III. 35). Sa relaxivité, mesurée à 65.3 MHz dans un milieu extracellulaire reconstitué, est égale à $12.3 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$, soit pratiquement trois fois celle du $[\text{Gd}(\text{DOTA})]^{-}$.^[58] La formation des complexes ternaires est donc fortement affectée par la charge du complexe de même que par sa structure et sa géométrie.

Deux nouvelles classes de complexes de gadolinium à deux molécules d'eau ont été développées. La première classe est constituée des dérivés du complexe $[\text{Gd}(\text{HOPO})]$ développé par K. Raymond et ses collaborateurs. Le premier composé de cette famille, le $[\text{Gd}(\text{TREN-Me-3,2-HOPO})]$, présente une relaxivité 2.5 fois supérieure à celle des agents de contraste commerciaux ($10.5 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$, 20 MHz, 37°C) (Figure III. 36).^[59]



TREN-Me-3,2-HOPO

Figure III. 36 : Structure du ligand TREN-Me-3,2-HOPO.

De plus, en dépit de la présence des deux molécules d'eau, sa stabilité thermodynamique et cinétique est semblable à celle des complexes $[\text{Gd}(\text{DOTA})(\text{H}_2\text{O})]^-$ et $[\text{Gd}(\text{DTPA})(\text{H}_2\text{O})]^{2-}$ ($\text{pGd} = 20.3$) et aucune réaction de transmétallation n'est observée en présence de $\text{Ca}(\text{II})$ ou de $\text{Zn}(\text{II})$.^[2] La seule limitation de ce type de composés est leur faible solubilité dans l'eau. Une nouvelle série de ligands mixtes comportant deux unités HOPO et une troisième unité chélatante hydrophile, facilement fonctionnalisable (bis(acétate), salicylamide, 2-hydroxyisophtalimide, 2,3-dihydroxyterephthalamide), a donc été développée^[52, 60, 61] Cependant, une forte diminution de la relaxivité est observée en présence de phosphate et d'oxalate alors que les autres anions endogènes n'ont peu d'effet.^[62] Des mesures systématiques des constantes d'affinité pour les complexes de $\text{Gd}(\text{III})$ de la série ont montré, ici encore, une forte influence de la charge et de l'architecture du complexe sur l'interaction avec les anions.^[62]

La deuxième classe est représentée par les complexes de $\text{Gd}(\text{III})$ avec des ligands macrocycliques développés par S. Aime et ses collaborateurs. Ces ligands, de type PC (« pyridine-containing ») sont basés sur un macrocycle polyazoté à 12 atomes, dont l'un des azotes appartient à une unité pyridine. Parmi ces ligands, le PCP2A, incluant deux bras acétate et un bras méthylènephosfonate, est particulièrement prometteur (Figure III. 37).^[63]

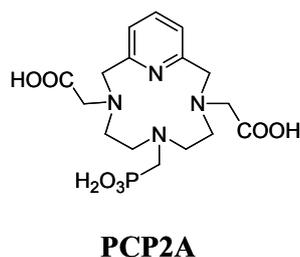


Figure III. 37 : Structure du ligand PCP2A.^[63]

En effet, il présente une bonne stabilité ($\log K_{\text{GdL}} = 23.4$) ainsi qu'une relaxivité élevée ($r_1 = 8.4 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$). Pour ce complexe, une seule des deux molécules d'eau est remplacée en présence de carbonate.^[63]

D'autres ligands heptadentes ont été synthétisés plus récemment. Par exemple le ligand AAZTA développé par l'équipe de S. Aime possède une très forte stabilité thermodynamique ($\log K_{\text{GdL}} = 19.3$) (

Figure III. 38).^[64]

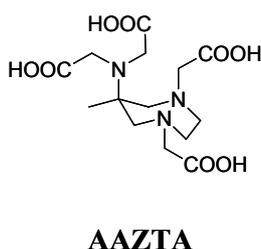
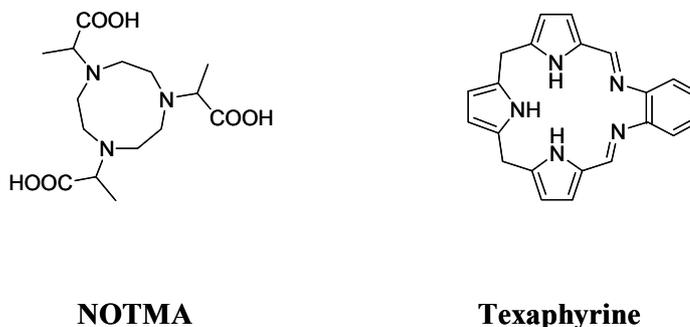


Figure III. 38 : Nouvelle architecture de ligand heptadente.

Peu de ligands hexadentes ont été étudiés car, comme nous venons de le voir, leur stabilité est souvent trop faible. Après le $[\text{Gd}(\text{EDTA})(\text{H}_2\text{O})_3]^-$ de relaxivité $r_1 = 7.15 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ à 20 MHz à 40°C,^[65] les complexes les plus anciens sont ceux avec les ligands NOTMA ($r_1 = 9.0 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$, 20 MHz, 25°C) et avec les texaphyrines (Figure III. 39).^[66] La forte relaxivité des texaphyrines est dramatiquement diminuée en présence de phosphate : de 17 à 5 $\text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ à 20 MHz.

**Figure III. 39 : Structures des principaux ligands hexadentes.**

D'après ces données, la formation de complexes ternaires avec les anions est très sensible à la structure et à la charge du complexe. Il en est de même pour l'interaction avec les chaînes latérales des protéines. Cependant, la relation entre les propriétés structurales et l'affinité n'est pas encore bien comprise. Ainsi, la comparaison entre les deux complexes analogues $[\text{Gd}(\text{dpaa})(\text{H}_2\text{O})_3]$ et $[\text{Gd}(\text{dpaba})(\text{H}_2\text{O})_2]^-$ devrait nous permettre de progresser dans la compréhension du phénomène.

Les trois molécules d'eau du complexe $[\text{Gd}(\text{dpaa})(\text{H}_2\text{O})_3]$ peuvent être partiellement ou totalement déplacées par les oxyanions. Plusieurs questions se posent alors : y a-t-il, similairement aux complexes de la série TREN-HOPO, une sélectivité entre les anions ? La présence d'une fonction carboxylate supplémentaire sur le complexe $[\text{Gd}(\text{dpaba})(\text{H}_2\text{O})_2]^-$ engendre-t-elle une diminution de l'affinité ? Les études structurales, potentiométriques et relaxométriques présentées ci-après devraient nous permettre d'apporter des éléments de réponse.

II.1. Synthèse et structure des complexes à l'état solide

II.1.1. Complexe de Gd(III) avec le ligand dpaa³⁻

Le complexe $[\text{Gd}(\text{dpaa})]$ a été isolé sous la forme d'une poudre blanche microcristalline par lente évaporation d'une solution 1 : 1 Gd : dpaa, après ajustement du pH à 6 avec une solution NaOH 1M. Le rendement obtenu est de 65%. Cependant, la forte solubilité du complexe à ce pH empêche sa cristallisation. Des essais de cristallisation par lente évaporation d'une solution à pH basique (8 environ) ont donc été réalisés. De cette manière, des monocristaux de qualité suffisante pour l'analyse aux rayons X ont été obtenus.

Le composé cristallise sous la forme d'un polymère infini monodimensionnel dans le groupe d'espace P-1 du système triclinique. Deux complexes de Gd(III) non-équivalents sont pontés par les deux oxygènes d'un carboxylate bidente pour former un tétramère centrosymétrique dans un arrangement plan carré (Figure III. 40). Les deux complexes sont nona-coordinés. Leurs polyèdres de coordination peuvent être définis comme des arrangements antiprisme carré mono-coiffé, le polyèdre de Gd(1) étant très déformé.

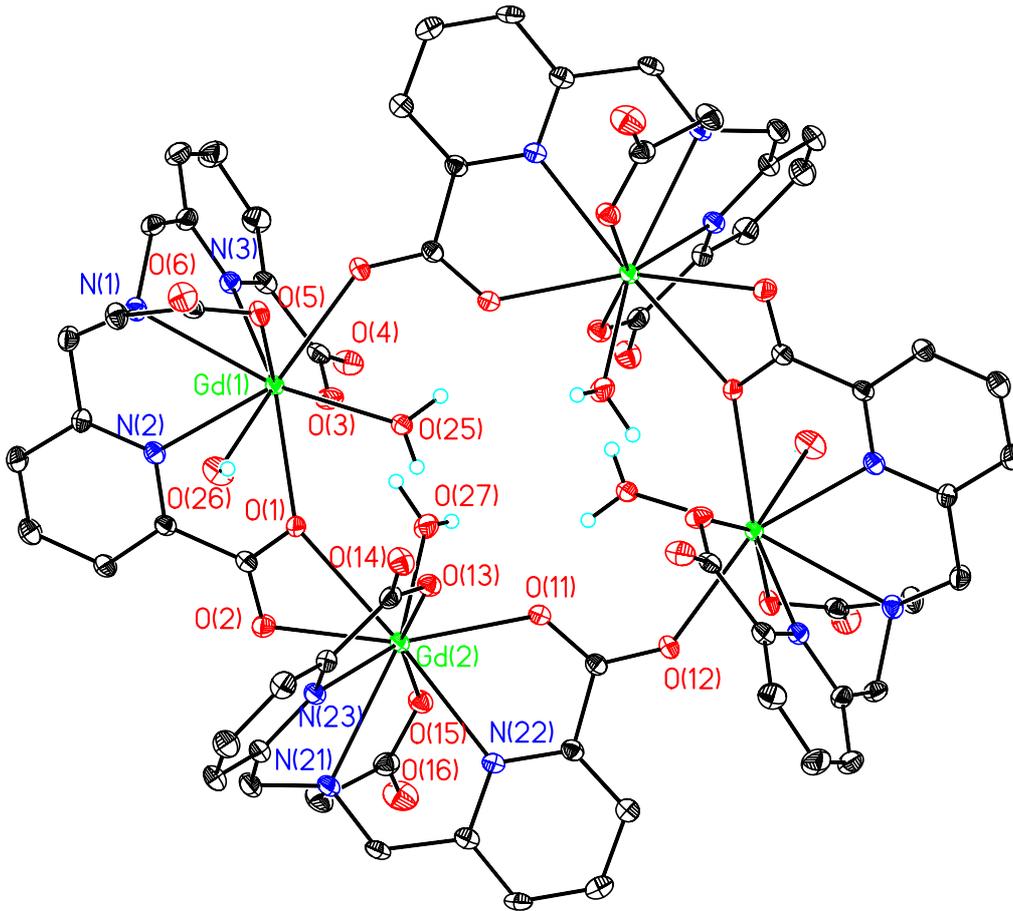


Figure III. 40 : Diagramme ORTEP du motif tétraédrique $\{\text{Gd}(\text{dpa})(\text{H}_2\text{O})_2\}[\text{Gd}(\text{dpa})(\text{H}_2\text{O})(\text{OH})_2]^{2-}$ du polymère de Gd(III) (éllipsoïdes thermiques à 30% de probabilité).

L'ion Gd(2) est coordonné par les six atomes donneurs du ligand dpa^{3-} , une molécule d'eau (O(27)) et par les deux oxygènes (O(1) et O(2)) du groupement picolinate d'un des complexes adjacents. Celui-ci lie les deux ions Gd(III) de manière $\mu : \eta^1 ; \eta^2$, indiquant de ce fait que la géométrie du ligand rend possible la coordination d'autres carboxylates dans un arrangement η^2 . Ainsi, l'interaction du complexe $[\text{Gd}(\text{dpa})]$ avec les acides carboxyliques endogènes (lactate, citrate...) est à envisager.

L'oxygène du picolinate qui n'est pas impliqué dans la coordination de Gd(2) (O(12)) est lié à l'autre ion Gd(1) voisin dans une interaction de type $\mu : \eta^1 ; \eta^1$.

Ainsi, l'ion Gd(1) est lié par les six donneurs du ligand, mais également par l'oxygène O(12) d'un groupement picolinate du complexe voisin, par une molécule d'eau (O(25)) et un hydroxo (O(26)). L'hydroxo terminal est relié à un sodium qui, pour une meilleure clarté de la figure, n'a pas été représenté. De plus, un autre cation sodium relie les oxygènes O(4) et O(14) de deux unités tétramériques différentes pour former le polymère monodimensionnel infini de formule $[\{[\text{Gd}(\text{dpaa})(\text{H}_2\text{O})]_2\{[\text{Gd}(\text{dpaa})(\text{H}_2\text{O})(\text{OH})]\text{Na}(\text{H}_2\text{O})_2\}_2\}_2\text{Na}(\text{OH})(\text{H}_2\text{O})_3.\text{CH}_3\text{OH}.6\text{H}_2\text{O}]_\infty$ (Figure III. 41).

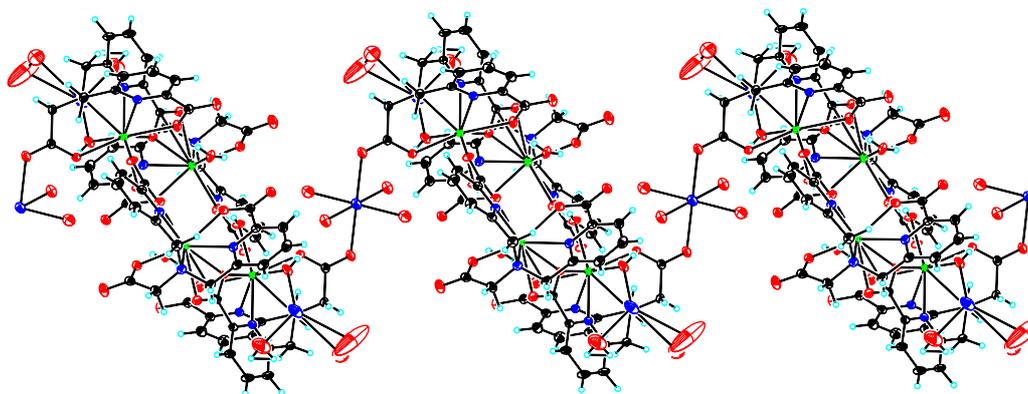


Figure III. 41 : Diagramme ORTEP de la structure polymérique mono dimensionnelle avec des ellipsoïdes thermiques à 30% de probabilité.

Les quatre sites de coordination vacants du sodium sont occupés par deux molécules d'eau et un ion hydroxide. La présence simultanée d'une molécule d'eau et d'un hydroxo dans la sphère de coordination du métal est à mettre en relation avec le résultat des études potentiométriques (voir § II.2.3.). De plus, la formation de cette espèce est favorisée par sa faible solubilité dans l'eau. La formation d'auto-assemblages polymétalliques de complexes hydroxos a déjà été observée à pH très basique (pH = 13-14) avec les complexes de lanthanides du ligand EDTA.^[67] Le mécanisme suggéré fait intervenir l'espèce mononucléaire aqua-hydroxo comme intermédiaire, cependant cette espèce n'avait jamais été isolée auparavant. Ainsi, cette structure a permis d'isoler pour la première fois une espèce hydroxo-aqua avec un hydroxo terminal. En effet, si plusieurs complexes de lanthanides hydroxos ont déjà été caractérisés, la plupart font intervenir des hydroxos pontant entre deux lanthanides.^[67-73] Cette structure indique que le ligand dpaa^{3-} pourrait être utilisé avec succès pour la synthèse contrôlée de complexes de lanthanides polynucléaires oxo/hydroxo.

II.1.2. Complexe de Lu(III) avec le ligand dpaa³⁻

Le complexe de Lu(III) a été synthétisé de manière similaire à celui de Gd(III), par lente évaporation d'une solution de ligand et de LuCl₃ à pH = 5.3. Il cristallise sous la forme d'un solide blanc avec un rendement de 82%. Toutefois, le complexe de Lu(III) est moins soluble que son analogue avec le Gd(III). Des monocristaux ont été obtenus à partir de la solution mère (pH = 5.3) puis analysés par diffraction des rayons X. Le composé cristallise dans le groupe d'espace P2(1) du système monoclinique sous la forme d'un monomère. Sa structure est représentée Figure III. 42. L'ion Lu(III) est octa-coordiné par les six atomes donneurs du ligand et par deux molécules d'eau. La géométrie de la sphère de coordination peut être décrite comme un dodécaèdre légèrement distordu. Le complexe [Lu(dpaa)(H₂O)₂] peut être comparé à son analogue [Lu(tpaa)(H₂O)], pour lequel la structure cristalline a précédemment été obtenue.^[21] Les structures cristallographiques des complexes [Ln(tpaa)] avec plusieurs ions Ln(III) ont montré une variation importante du nombre de coordination et de la solvataion le long de la série. Le complexe de Lu(III) avec le ligand tpaa³⁻ cristallise sous la forme d'un monomère octadente avec une molécule d'eau. Les trois bras picolinate s'enroulent autour du métal de manière hélicoïdale. En revanche, dans le cas du ligand dpaa³⁻, les trois bras forment une pince. Cet arrangement différent influence peu les distances au centre métallique qui restent similaires à celles observés pour le complexe [Lu(tpaa)(H₂O)]. Pour comparaison, la distance Lu–N_{apical} mesure 2.575(11) Å (au lieu de 2.6071(18) Å avec le ligand tpaa³⁻) et les distances moyennes Lu–O_{carboxyl} et Lu–N valent respectivement 2.27(2) Å et 2.46(1) Å, au lieu de 2.30(4) Å et 2.48(9) Å.

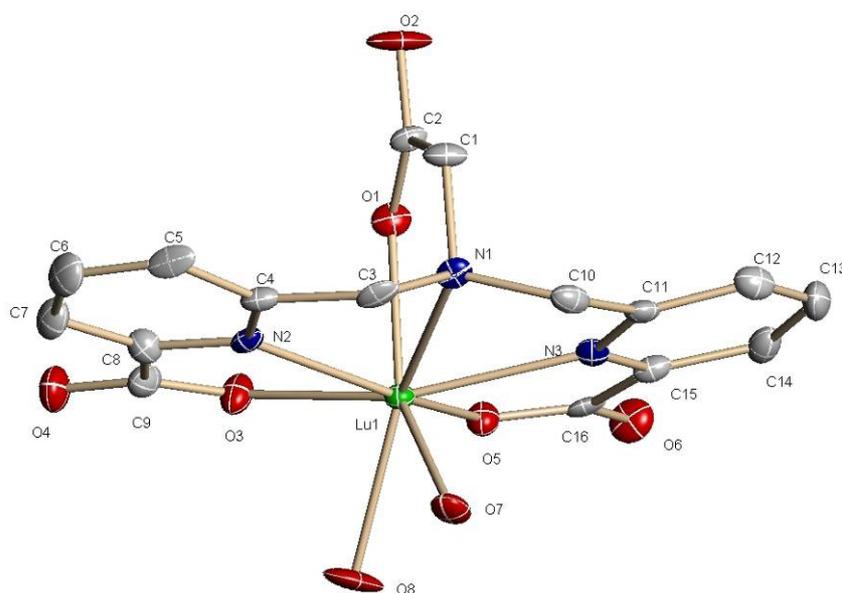


Figure III. 42 : Diagramme ORTEP du complexe [Lu(dpaa)(H₂O)₂] (ellipsoïde thermique à 30% de probabilité).

A ce jour, les complexes de Ln(III) avec le ligand analogue dpaba⁴⁻ ont tous été synthétisés *in situ* et leurs propriétés étudiées en solution. Des essais de cristallisation sont en cours mais n'ont donné aucun résultat pour l'instant, probablement dû à la solubilité plus élevée du complexe.

II.2. Etudes structurales en solution

Un des premiers objectifs de la synthèse du ligand dpaa^{3-} était, en remplaçant un picolinate hydrophobe par un groupement acétate hydrophile, d'augmenter la solubilité des complexes. Notre objectif est atteint : les complexes de Ln(III) avec le ligand dpaa^{3-} sont beaucoup plus solubles (> 20 mM) que leurs analogues avec le ligand tpaa^{3-} (< 1 mM).

II.2.1. Etudes par RMN ^1H

Complexes avec le ligand dpaa^{3-}

Les spectres RMN ^1H des complexes $[\text{Ln}(\text{dpaa})]$ ($\text{Ln} = \text{La}, \text{Eu}, \text{Tb}, \text{Lu}$) ont été réalisés dans D_2O , à 25°C et à 400 MHz pour des valeurs de pD comprises entre 6 et 8 (Figure III. 43 et Figure III. 44).

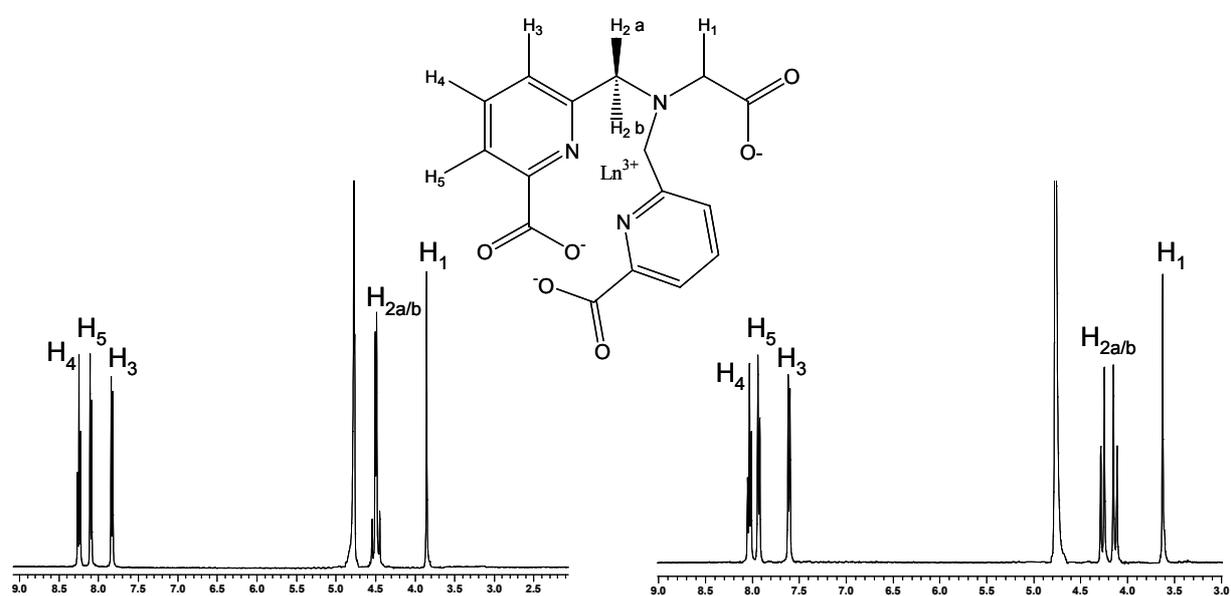


Figure III. 43 : Spectres RMN ^1H , D_2O , 400 MHz. A gauche : $[\text{Lu}(\text{dpaa})]$, pD = 6.7 ; à droite : $[\text{La}(\text{dpaa})]$, pD = 8.1.

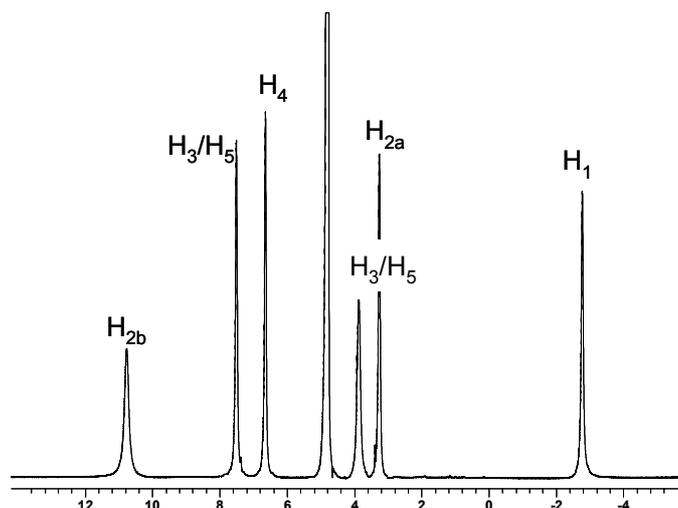


Figure III. 44 : Spectre RMN ^1H du complexe $[\text{Eu}(\text{dpaa})]$, D_2O , 400 MHz, 25°C , pD=7.9.

Un seul ensemble de six signaux est observé le long de la série : trois pour les protons des pyridines, deux signaux pour les protons diastéréotopiques du méthylène en α du cycle aromatique et une résonance pour les deux protons du groupement acétate. Ces données indiquent la présence d'une espèce rigide de symétrie C_s en solution. Les protons diastéréotopiques des bras acétate et picolinate indiquent la coordination de l'azote apical à l'échelle du temps RMN. Les deux protons du groupement acétate sont rendus équivalents par la présence d'un plan de symétrie. Notons qu'un comportement fluxionnel impliquant une interconversion rapide des deux conformations Δ et Λ avait été observé pour les complexes avec le ligand tpaa^{3-} .^[21] Dans ce cas, les complexes $[\text{Ln}(\text{dpaa})]$ sont plus rigides, indiquant une meilleure complémentarité métal-ligand.

Des études RMN ^1H en présence d'un excès de ligand ont indiqué la formation d'une nouvelle espèce en solution. Ainsi, les spectres des complexes $[\text{Ln}(\text{dpaa})_2]^{3-}$ ($\text{Ln} = \text{Eu}, \text{Tb}, \text{Lu}$) ont également été réalisés. A 25°C et 400 MHz, des spectres larges sont obtenus pour les complexes de $\text{Tb}(\text{III})$ et $\text{Lu}(\text{III})$, caractéristiques de la présence d'équilibres conformationnels en solution. En revanche, avec l' $\text{Eu}(\text{III})$, plus de 17 signaux sont dénombrés, en accord avec la formation d'une espèce rigide de symétrie C_1 (Figure III. 45). Cependant, le recouvrement partiel des signaux a rendu leur attribution impossible. La formation d'une espèce 2 : 1 en solution a été confirmée par potentiométrie (voir § II.2.3.).

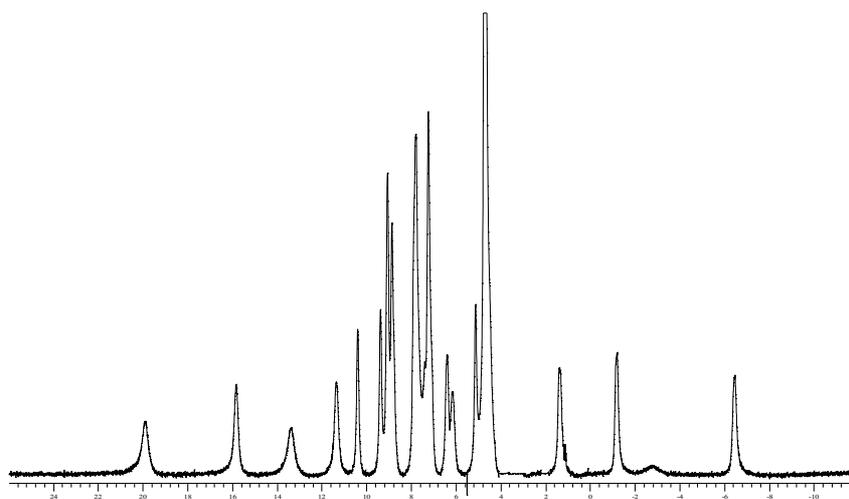


Figure III. 45 : Spectre RMN ^1H du complexe $[\text{Eu}(\text{dpaa})_2]^{3-}$, D_2O , 400 MHz, 25°C , $\text{pD} = 7.8$.

Complexes avec le ligand dpaba^{4-}

Les complexes de $\text{Ln}(\text{III})$ ($\text{Ln} = \text{La}, \text{Eu}, \text{Lu}$) avec le ligand analogue dpaba^{4-} ont été étudiés de manière similaire. Les spectres RMN ^1H , réalisés à 25°C , 400 MHz et pour des valeurs de pD comprises entre 6.7 et 7.5, indiquent la présence de treize signaux (Figure III. 46 et Figure III. 47). L'étude des couplages scalaires et de l'effet Overhauser a permis d'attribuer les signaux. Six résonances sont observées pour les deux groupements picolinate, quatre signaux pour les CH_2 en α des cycles

aromatiques, deux pour le groupement acétate et un pour le proton porté par le carbone chiral. Ce motif est en accord avec la présence d'une espèce rigide de symétrie C_1 en solution. A nouveau, les protons des méthylènes sont diastéréotopiques indiquant qu'il n'y a pas de décooordination en solution. Contrairement à ce qui a été observé avec le ligand dpaa³⁻, la formation d'espèce 2 : 1 n'a pas lieu.

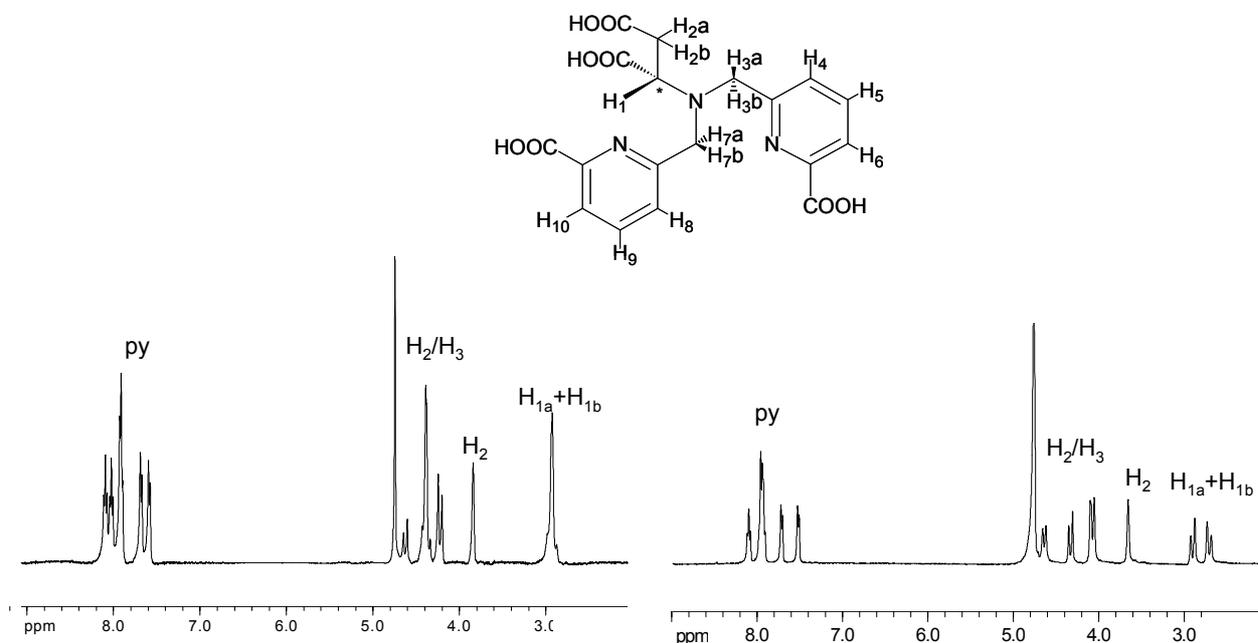
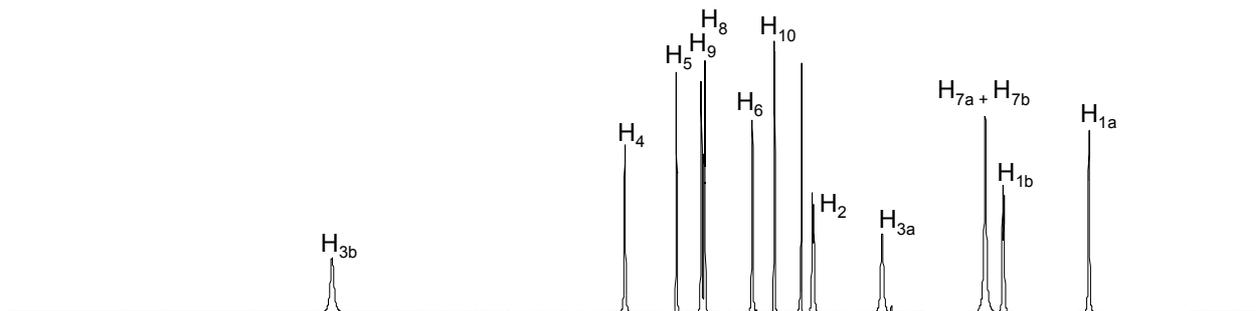
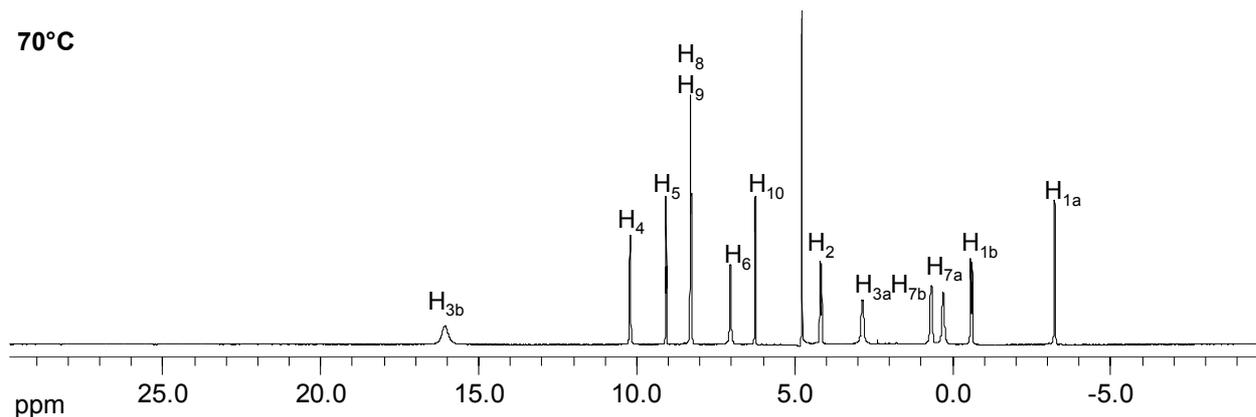


Figure III. 46 : Spectres RMN ¹H, D₂O, 400 MHz. A gauche : [Lu(dpaba)]⁻, pD = 7.5 ; à droite : [La(dpaba)]⁻, pD = 6.7.

25°C



70°C

Figure III. 47 : Spectre RMN ^1H du complexe $[\text{Eu}(\text{dpaba})(\text{H}_2\text{O})_2]^-$, D_2O , 400 MHz, $\text{pD} = 7.3$.

II.2.2. Détermination du nombre de molécules d'eau coordonnées

De même que pour les complexes décrits précédemment, le nombre de molécules d'eau dans la première sphère de coordination du Gd(III) est estimé à partir de la solvation des complexes avec les métaux voisins Eu(III) et Tb(III). Les résultats sont rassemblés ci-dessous (Tableau III. 9).

		λ_{ex} (nm)	$\tau_{\text{H}_2\text{O}}$ (ms)	$\tau_{\text{D}_2\text{O}}$ (ms)	$q \pm 0.2$
dpaa ³⁻	[Eu(dpaa)]	272	0.307(2)	2.53(2)	3.1
	[Tb(dpaa)]	272	0.99(1)	2.65(2)	2.9
	$[\text{Eu}(\text{dpaa})_2]^{3-}$	271	1.11(4)	2.43(2)	0.3
	$[\text{Tb}(\text{dpaa})_2]^{3-}$	271	1.18(4)	1.73(2)	1.06
mpatcn ³⁻	[Eu(mpatcn)]	273	0.394(6)	1.58(2)	2.0
	[Tb(mpatcn)]	273	1.233(3)	2.542(6)	1.8
dpaba ⁴⁻	$[\text{Eu}(\text{dpaba})]^-$	272	0.383(4)	2.628(5)	2.4
	$[\text{Tb}(\text{dpaba})]^-$	272	1.225(4)	2.98(1)	2.1

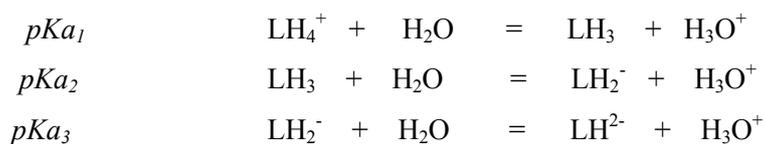
Tableau III. 9 : Temps de vie des complexes d'Eu(III) et de Tb(III) avec les ligands étudiés dpaa³⁻, mpatcn³⁻ et dpaba⁴⁻, dans le tampon Tris (pH = 7.4) et dans le D₂O (pD = 7.4), ainsi que le nombre de molécules d'eau en sphère interne q calculé.

Pour les complexes avec le ligand dpaba⁴⁻, les résultats sont en accord avec la formation d'une seule espèce monomérique [Ln(dpaba)(H₂O)₂]⁻ en solution (Ln = Eu, Tb et Gd par extension). De manière analogue, les complexes avec le ligand mpatch³⁻ possèdent un nombre d'hydratation égal à deux. En revanche, pour le ligand dpaa³⁻, la formation de complexes de stoechiométrie 1 : 1 et 2 : 1 a été mise en évidence par RMN ¹H. Ainsi, les mesures de luminescence ont été réalisées d'une part, en présence de quantités équimolaires de métal et de ligand et d'autre part, dans des conditions où seule l'espèce 2 : 1 est présente ([Eu] ~ 4·10⁻⁴ M, [dpaa] ~ 8.8·10⁻⁴ M pour le complexe d'Eu(III) et [Tb] ~ 1·10⁻³ M, [dpaa] ~ 4.3·10⁻³ M pour le complexe de Tb(III)). Les temps de vie observés indiquent la présence de trois molécules d'eau dans la sphère de coordination des complexes [Ln(dpaa)] (Ln = Eu, Tb et par extension Gd). Cependant, pour les complexes de bis-dpaa, les valeurs mesurées sont en accord avec la présence de 1.06 ± 0.2 molécules d'eau pour le complexe [Tb(dpaa)₂]³⁻ et 0.3 ± 0.2 pour le complexe d'Eu(III). En général, les complexes d'Eu(III) et de Tb(III) possèdent le même nombre de molécules d'eau dans la première sphère de coordination. Cependant, nous avons vu en introduction que les nombres de coordination des lanthanides varient, au cours de la série, de 9 à 10 pour les gros lanthanides comme la lanthane jusqu'à 8 pour l'ion lutétium qui est plus petit. Le changement de coordination a lieu pour des ions différents en fonction du ligand utilisé. Souvent la rupture a lieu au niveau du Gd(III) ; ce changement est qualifié de « gadolinium break ». Par exemple, les ions Eu(III) et Tb(III) aqua possèdent respectivement 9.6 et 9.0 molécules d'eau.^[2] En ce qui concerne les complexes avec le DOTA⁴⁻, un changement du nombre de molécules d'eau coordonnées est observé au niveau du Tm(III).^[74] Dans la série de complexes avec des ligands terpyridine cristallisée par L. I. Semenova et ses collaborateurs, la rupture a lieu, à l'état solide, au niveau du Gd(III) et le nombre de molécules d'eau passe de q = 3 (du La au Gd) à q = 2 (du Tb au Lu).^[75] Ici, la différence de solvation observée pour les complexes bis-dpaa est vraisemblablement liée à d'importantes différences structurales entre les deux complexes. Dans le complexe [Eu(dpaa)₂]³⁻, neuf donneurs parmi les douze donneurs potentiels saturent la sphère de coordination de l'Eu(III). En revanche, l'ion Tb(III), plus petit, ne peut s'accommoder que d'un nombre restreint de donneurs (huit), laissant ainsi un site de coordination libre pour une molécule d'eau. Cette interprétation est en accord avec les résultats RMN ¹H qui indiquent une plus grande fluxionnalité pour le complexe de Tb(III). De plus, les dosages potentiométriques ont révélé une stabilité inférieure pour le complexe 2 : 1 de Tb(III) (voir § II.2.3.). D'importantes différences dans les mécanismes de formation de complexes ternaires avaient déjà observées le long de la série des lanthanides par G. R. Choppin et ses collaborateurs pour les adduits Ln-EDTA-NTA.^[76] L'ion Gd(III) étant intermédiaire entre les ions Eu(III) et Tb(III), il est cette fois impossible de prédire à priori son état d'hydratation (q = 0 ou q = 1). Seule la mesure de la relaxivité va nous permettre de trancher. Nous verrons par la suite que la relaxivité du complexe [Gd(dpaa)₂]³⁻ est en accord avec la présence d'une molécule d'eau dans sa première sphère de coordination (§ II.3.2.).

II.2.3. Protonation des ligands et stabilité des complexes

- Complexes avec le ligand H_3dpaa

Les constantes de protonation du ligand ont été déterminées de manière analogue à celles décrites pour les ligands précédents. Entre $pH = 2.5$ et $pH = 10$, trois constantes de protonation ont été mises en évidence. Les pK_a associés sont présentés dans le Tableau III. 10. Ils correspondent aux équilibres suivants :



pK_{a1}	pK_{a2}	pK_{a3}
2.9 ± 0.1	3.8 ± 0.1	7.33 ± 0.03

Tableau III. 10 : pK_a du ligand $dpaa$ ($25^\circ C$, KCl $0.1 M$).

Similairement à ce qui a été observé pour le ligand H_3tpaa ,^[21] le pK_a le plus élevé correspond à la protonation de l'amine tertiaire. Les deux autres pK_a correspondent respectivement aux protonations des groupements carboxylate liés aux pyridines. La protonation du groupement acétate a lieu à un pH inférieur et le pK_a associé n'a pu être déterminé. Pour comparaison, le pK_a de la fonction acide terminal de la glycine est égal à 2.35. La valeur du pK_a de l'amine tertiaire (pK_{a3}) est significativement plus faible pour le ligand H_3dpaa que celle reportée dans la littérature pour le ligand H_3nta ($pK_{a3} = 9.75$).^[29] Cette diminution est associée à la présence des groupements électro attracteurs acide 6-méthyl-2-pyridinecarboxilique. La valeur obtenue est en accord avec celle observée pour le ligand dpa ($pK_a = 7.30$).^[77] Les valeurs des deux autres pK_a sont similaires à celles obtenues pour la protonation des groupements carboxylate des fonctions picolinate du ligand H_3tpaa ($pK_{a2} = 3.3(1)$, $pK_{a3} = 4.11(6)$).^[21] Les ligands H_3nta , $Hdpa$ et H_3tpaa sont représentés ci-dessous.

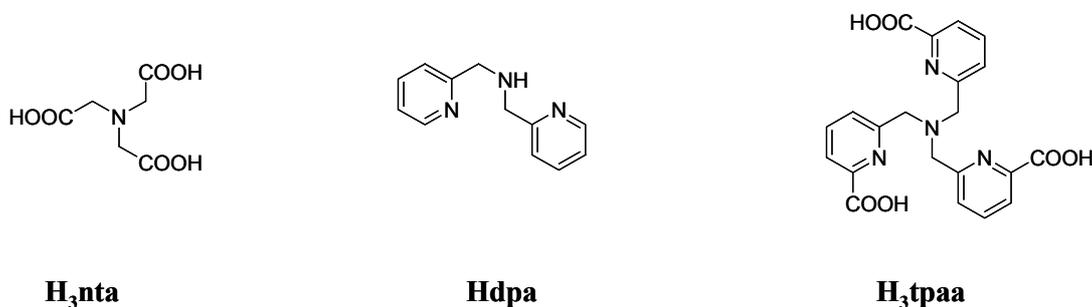
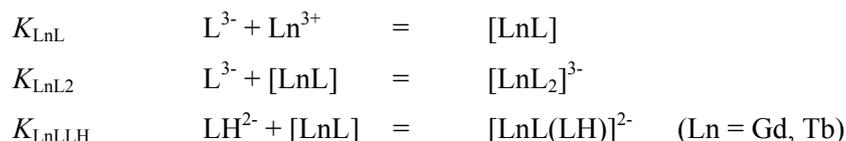


Figure III. 48 : Structure des ligands H_3nta et $Hdpa$ et H_3tpaa .

Les études RMN 1H et de luminescence ont montré la formation de complexes de stoechiométrie métal : ligand 1 : 1 et 1 : 2 du ligand $dpaa^{3-}$ avec les lanthanides. De plus, pour l'espèce 1 : 2, la sphère

de coordination semble varier en fonction du lanthanide utilisé. Ainsi, nous avons mesuré les constantes de stabilité de ces complexes avec l'ion Gd(III) et également avec le Tb(III). Pour cela, des solutions 1 : 1 Gd : dpaa ($[dpaa^{3-}] = 4.3 \cdot 10^{-4} \text{ M}$), 1 : 2 Gd : dpaa ($[dpaa^{3-}] = 4.4 \cdot 10^{-4} \text{ M}$), 1 : 1 Tb : dpaa ($[dpaa^{3-}] = 3.6 \cdot 10^{-4} \text{ M}$) et 1 : 2 Tb : dpaa ($[dpaa^{3-}] = 1.8 \cdot 10^{-4} \text{ M}$) ont été dosées par potentiométrie (Figure III. 49). La méthode utilisée est identique à celle décrite pour les complexes avec le ligand H₃bpatcn. Les données ont pu être ajustées avec le programme Hyperquad en considérant les équilibres thermodynamiques suivants :



Les valeurs des constantes et de pM sont rassemblées dans le tableau ci-dessous.

	Ln = Gd	Ln = Tb
log K_{LnL}	10.6 ± 0.2	10.4 ± 0.2
log K_{LnL2}	6.0 ± 0.3	4.8 ± 0.5
log K_{LnLLH}	5.2 ± 0.4	6.4 ± 0.4
pM	12.3	12.7

Tableau III. 11 : Constantes de stabilité des complexes du ligand H₃dpaa et pM calculés.

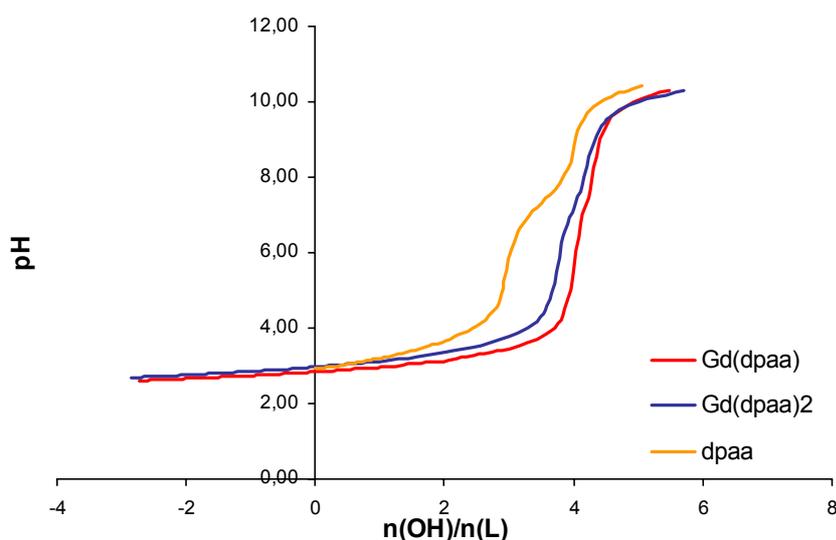


Figure III. 49 : Courbes de titration normalisées ($pH = f(n_{OH^-}/n_{dpaa})$) pour des solutions de H₃dpaa (0.44 mM) et de 1 : 1 et 2 : 1 dpaa : Gd ($[dpaa] = 0.44 \text{ mM}$, $[Gd^{3+}] = 0.44$ et 0.22 mM).

Les complexes $[\text{Gd}(\text{dpaa})(\text{H}_2\text{O})_3]$ et $[\text{Tb}(\text{dpaa})(\text{H}_2\text{O})_3]$ sont iso-structuraux en solution et leurs constantes de formation sont égales. Le diagramme de répartition des espèces obtenues pour une solution 1 : 1 Gd : dpaa³⁻ est représenté Figure III. 50. La formation du complexe 1 : 1 a lieu à partir de pH = 4. A pH > 8, une nouvelle espèce hydroxo soluble $[\text{Gd}(\text{dpaa})(\text{OH})]^-$ commence à se former. Les données potentiométriques sont confortées par l'obtention du polymère aqua-hydroxo isolé à pH basique dont la structure cristallographique a été précédemment décrite. De plus, la présence de complexes de lanthanides hydroxos en solution à pH basique a déjà été observée avec des ligands polyaminocarboxylates.^[14]

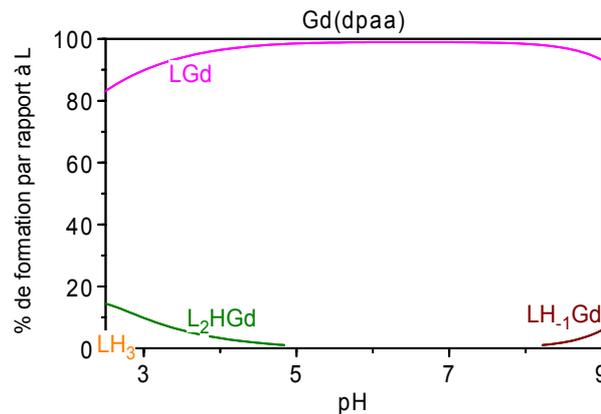


Figure III. 50 : Stœchiométrie Gd : dpaa 1 : 1, distribution des espèces en fonction du pH
 ($[\text{dpaa}]_{\text{tot}} = [\text{Gd}^{3+}] = 0.43 \text{ mM}$, KCl 0.1 M, H₂O).

A pH = 7, pour un rapport stœchiométrique Gd : dpaa égal à 1 : 2 et une concentration $[\text{dpaa}]_{\text{total}} = 0.22 \text{ mM}$, l'espèce majoritaire en solution est le complexe tri-anionique $[\text{Gd}(\text{dpaa})_2]^{3-}$ pour lequel toutes les fonctions carboxylate sont déprotonées (Figure III. 51). En dessous de pH = 7, le complexe est également sous forme di-anionique $[\text{Gd}(\text{dpaa})(\text{Hdpaa})]^{2-}$ pour laquelle une des fonctions acétate du deuxième ligand est protonée ; cette espèce est majoritaire à pH = 4.

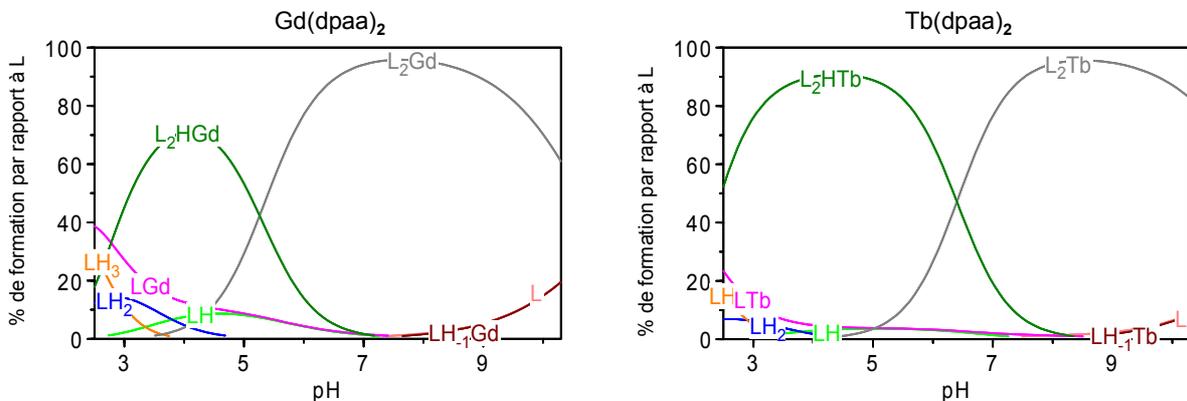


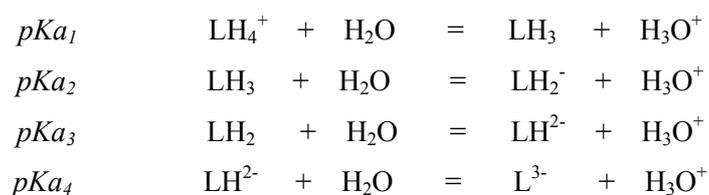
Figure III. 51 : Stœchiométrie Ln : dpaa 1 : 2, distribution des espèces en fonction du pH
 (A gauche : Ln = Gd ; à droite : Ln = Tb) ($[\text{dpaa}]_{\text{tot}} = 0.43 \text{ mM}$, $[\text{Ln}^{3+}] = 0.22 \text{ mM}$, KCl 0.1 M, H₂O).

Un comportement similaire a été déjà observé pour des complexes ternaires avec des ligands polyaminocarboxylate.^[76, 78] Par exemple G. R. Choppin et ses collaborateurs ont mis en évidence l'existence des deux formes du complexe ternaire $[M(\text{EDTA})(\text{NTAH})]^{3-}$ et $[M(\text{EDTA})(\text{NTA})]^{4-}$ avec $M = \text{Am}, \text{Cm}$ et Eu .^[79] A $\text{pH} = 7.5$, l'espèce hydroxo commence à apparaître et déplace le deuxième ligand. Que ce soit pour des stœchiométries 1 : 1 ou 2 : 1, l'espèce hydroxo est présente à une concentration trop faible pour que sa constante de formation soit déterminée précisément.

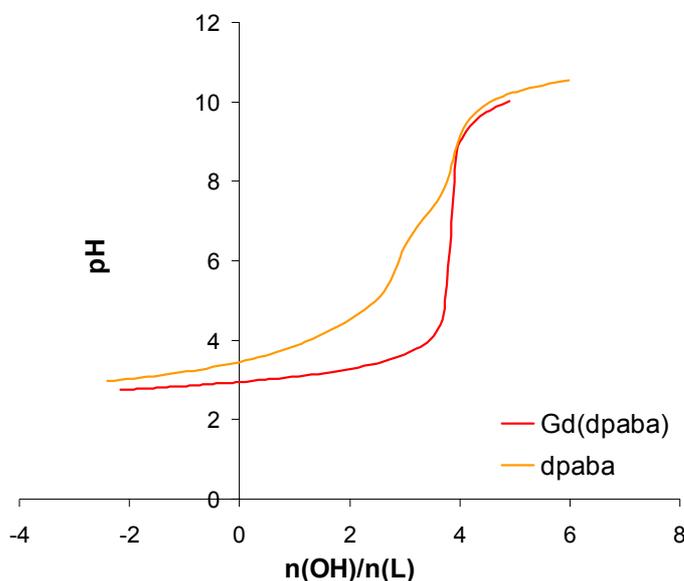
Un comportement analogue est observé pour les complexes de l'ion Tb(III) , pour lequel l'espèce protonée est plus stable, laissant présager qu'un des bras carboxylate au moins n'est pas lié au centre métallique.

- **Complexe avec le ligand $H_4\text{dpaba}$**

Entre $\text{pH} = 2.5$ et $\text{pH} = 10$, quatre pK_a du ligand $H_4\text{dpaba}$ ont pu être déterminés. La courbe de dosage est représentée Figure III. 52. Les équilibres thermodynamiques considérés et les pK_a mesurés sont donnés ci-dessous :



pK_{a1}	pK_{a2}	pK_{a3}	pK_{a4}
3.2 ± 0.1	3.83 ± 0.05	4.83 ± 0.08	7.13 ± 0.02

Tableau III. 12 : pKa du ligand H₄dpaba (25°C, KCl 0.1 M).Figure III. 52 : Courbes de titration normalisées ($pH = f(n_{OH^-}/n_{dpaba})$) pour des solutions de H₄dpaba (0.42 mM) et de 1 : 1 dpaba : Gd ($[dpaba] = 0.38$ mM, $[Gd^{3+}] = 0.37$ mM).

Les pKa peuvent être attribués aux différentes fonctions acidobasiques par analogie à ce qui a été observé pour les ligands H₃tpaa et H₃dpaa. Les trois acidités les plus fortes sont attribuées aux fonctions acide carboxylique et le pKa₄ à l'azote apical. Aux pH considérés, seuls trois des quatre fonctions carboxylate sont protonées et le dernier pKa n'a pu être déterminé. Les valeurs des pKa des deux acides aminés glycine et acide aspartique sont identiques, indiquant que la présence de la chaîne latérale de l'acide aspartique n'a pas d'influence. Ainsi, la valeur du pKa₄ déterminée dans le cas du ligand H₄dpaba est très proche de celle observée pour le ligand H₃dpaa. Le troisième pKa est attribué à la protonation de la chaîne latérale de l'acide aspartique. La valeur obtenue est légèrement différente de celle observée dans le cas de l'acide aspartique (pKa = 3.86) à cause des effets de coopérativité entre les deux fonctions acides du ligand. Les pKa₁ et pKa₂ correspondent aux protonations des fonctions picolinate et leurs valeurs sont similaires à celles observées pour le ligand H₃dpaa. La protonation de l'acide terminale de l'acide aspartique a lieu à des valeurs de pH plus faibles (pKa ~2) et son pKa n'a pas été déterminé.

Afin de comparer les propriétés de complexation des deux ligands dpaa³⁻ et dpaba⁴⁻, la constante de stabilité du complexe [Gd(dpaba)]⁻ a également été mesurée par potentiométrie (Figure III. 52). La formation d'une seule espèce GdL est observée :



La constante de formation du complexe ($\log K_{GdL} = 12.5(2)$) avec le ligand dpaba⁴⁻ est supérieure à celle observée avec le ligand dpaa³⁻ (10.6 (2)), dû à l'augmentation de l'effet chélate liée à l'introduction d'une fonction coordinante supplémentaire. Elle est également supérieure à la constante de formation du complexe neutre [Gd(tpaa)(H₂O)₂] ($\log K_{GdL} = 10.2(2)$), dû à l'augmentation de la basicité du ligand. La valeur du pGd (pGd = 13.3) indique une stabilité du complexe [Gd(dpaba)(H₂O)₂]⁻ légèrement inférieure à celle du complexe [Gd(DO3A)(H₂O)₂] (pGd = 15.8) et similaire à celle du complexe mono-aqua [Gd(bpatcn)(H₂O)] (pGd = 13.6).

II.3. Etude de la relaxivité

Nous avons vu, dans le cas du complexe [Gd(bpatcn)(H₂O)] que la détermination rigoureuse et indépendante de tous les paramètres gouvernant la relaxivité d'un complexe requiert de nombreuses expériences multi-champs et donc une bonne disponibilité des spectromètres. Afin de s'affranchir de cette contrainte, une nouvelle méthode simple et directe de détermination des paramètres k_{ex} et τ_R a été développée au laboratoire.

II.3.1. Nouvelle méthode de détermination rapide de k_{ex} et τ_R

Cette méthode est basée sur l'étude de la relaxivité pour une seule valeur de champ élevée ($B_0 \geq 100$ MHz) en présence de méthanol CH₃OD comme sonde de sphère externe. Son avantage principal réside dans le fait que les paramètres sont déterminés de manière indépendante de la relaxation électronique.

- Premièrement, la relaxivité des protons CH₃ du méthanol est mesurée. Comme le méthanol ne se coordonne pas au centre métallique en présence d'un large excès d'eau, la contribution est purement de sphère externe (OS). L'équation décrite en introduction pour la description de la relaxivité longitudinale OS à haut champ peut être également exprimée à partir de la relaxivité mixte $r_{mix,m}^{OS}(\infty)$ à un champ infini (Equation III. 4). Il en est de même pour la relaxivité transversale (Equation III. 5).

$$r_{1,m}^{OS} = r_{mix,m}^{OS}(\infty) - (\lambda_D / D_{m,GdL}^{3/2}) \sqrt{\pi v_I} \quad \text{Equation III. 4}$$

$$r_{2,m}^{OS} = \frac{7}{6} r_{mix,m}^{OS}(\infty) - \frac{1}{2} (\lambda_D / D_{m,GdL}^{3/2}) \sqrt{\pi v_I} \quad \text{Equation III. 5}$$

La relaxivité de sphère externe est liée aux mouvements de diffusion translationnelle des protons de la sonde (ou de l'eau) par rapport au complexe GdL. Elle est indépendante des phénomènes dynamiques de rotation de chacune des espèces. Sa dépendance en champ ($\sqrt{v_I}$) est liée à la vitesse de relaxation électronique longitudinale $1/T_{1e}$. Cependant, nous pouvons considérer que pour des valeurs de champ suffisamment élevées ($B_0 \geq 100$ MHz), les effets de

la relaxation électronique sont négligeables. Ainsi, la relaxivité $r_{\text{mix},m}^{\text{OS}}(\infty)$ peut être déduite, avec une bonne approximation, des valeurs expérimentales selon l'équation suivante :

$$r_{\text{mix}}^{\text{OS}}(\infty) = \frac{3}{2} \left(r_2^{\text{OS}} - \frac{1}{2} r_1^{\text{OS}} \right) = \frac{3}{2} \left(r_{1,\rho}^{\text{OS}} - \frac{1}{2} r_1^{\text{OS}} \right) \quad \text{Equation III. 6}$$

- Deuxièmement, la relaxivité mixte $r_{\text{mix},w}^{\text{OS}}(\infty)$ des protons de l'eau est déduite de celle du méthanol par l'équation III. 7.^[46]

$$r_{\text{mix},w}^{\text{OS}}(\infty) = r_{\text{mix},m}^{\text{OS}}(\infty) \frac{D_{m/\text{GdL}} \cdot b_{m/\text{GdL}}}{D_{w/\text{GdL}} \cdot b_{w/\text{GdL}}} \quad \text{Equation III. 7}$$

où $D_{x/\text{GdL}}$ et $b_{x/\text{GdL}}$ sont respectivement les coefficients de diffusion relatif et les diamètres de collision des paires x/GdL avec $X = m$ (méthanol) ou $X = w$ (water). D'après le paragraphe précédent, le coefficient de diffusion relatif est la somme des coefficients de diffusion absolue des deux espèces. Ici, le coefficient de diffusion translationnelle du complexe GdL sera estimé à partir des données de la littérature.^[80] Les diamètres de collision sont estimés à partir de modèles moléculaires compacts.

- La troisième étape consiste à calculer la relaxivité de sphère externe des protons de l'eau à partir de la relaxivité mixte $r_{\text{mix},w}^{\text{OS}}(\infty)$ et du coefficient de diffusion relatif $D_{w/\text{GdL}}$.

$$r_{1,m}^{\text{OS}} = r_{\text{mix},m}^{\text{OS}}(\infty) - (\lambda_D / D_{m,\text{GdL}}^{3/2}) \sqrt{\pi V_I} \quad \text{Equation III. 8}$$

$$r_{1,m}^{\text{OS}} = \frac{7}{6} r_{\text{mix},m}^{\text{OS}}(\infty) - \frac{1}{2} (\lambda_D / D_{m,\text{GdL}}^{3/2}) \sqrt{\pi V_I} \quad \text{Equation III. 9}$$

- Dans une quatrième étape, la relaxivité de sphère interne des protons de l'eau est simplement déduite par différence de la contribution de sphère externe à la relaxivité totale.
- Enfin, la dernière étape consiste en l'évaluation des paramètres gouvernant la relaxivité de sphère interne : q , r_{GDH} , k_{ex} , et τ_R . Le nombre de molécule d'eau en première sphère de coordination est déterminé indépendamment par des études de luminescence (§ II.2.2.). Comme nous l'avons vu en introduction, la distance r_{GDH} est fixée à 3.1 Å. Ainsi, les paramètres τ_R et k_{ex} sont les seuls paramètres ajustables. Il est important de noter que la détermination de k_{ex} est d'autant plus précise que sont influence sur la relaxivité est importante. Ainsi, cette méthode est particulièrement adaptée à l'étude de complexes à échanges lents.

L'absence de coordination du méthanol au Gd(III) en présence d'un large excès d'eau a souvent été postulée mais jamais vérifiée. Supposons qu'une interaction avec le métal ait lieu. Les protons CH₃ du méthanol sont significativement plus éloignés du centre métallique que ceux de l'eau (O-C = 1.43 Å).

Or la contribution de sphère interne (IS) à relaxivité du proton est fonction de $\frac{1}{r_{GdH}^6}$ de sorte que la contribution des protons du méthanol à la relaxivité IS serait dix fois inférieure à celle de l'eau. De plus, la contribution des protons à la relaxivité de sphère externe (OS) est proportionnelle à 1/D. Comme le méthanol diffuse deux fois plus lentement que les molécules d'eau, sa contribution de sphère externe est deux fois supérieure à celle de l'eau. Ainsi, dans le cas d'une éventuelle coordination du CH₃OD, sa contribution de sphère interne à la relaxivité totale est au maximum de 2 à 3%.

Nous venons de montrer que la mesure des relaxivités r_1 , r_2 (ou $r_{1\rho}$) pour les protons méthyliques du méthanol et les protons de l'eau permet non seulement une mesure indépendante des contributions de sphère externe (OS) et de sphère interne (IS) mais aussi la détermination des paramètres associés (k_{ex} et τ_R). Cette méthode sera utilisée pour l'étude des complexes [Gd(dpaa)(H₂O)₃], [Gd(dpaba)(H₂O)₂]⁻ et [Gd(mpatcn)(H₂O)₂].

II.3.2. Relaxivité des complexes [Gd(dpaa)(H₂O)₃], [Gd(dpaa)₂(H₂O)]³⁻ et [Gd(dpaba)(H₂O)₂]⁻

La relaxivité des solutions des complexes [Gd(dpaa)(D₂O)₃], [Gd(dpaa)₂(D₂O)]³⁻ et [Gd(dpaba)(D₂O)₂]⁻ dans D₂O et en présence de CH₃OD a été étudiée à 200 MHz et 25°C. Les temps de relaxation des protons du méthanol ainsi que la relaxivité mixte associée sont rassemblés dans le Tableau III. 13. Les valeurs $r_{mix,2}^{OS}$ et $r_{mix,1\rho}^{OS}$ sont respectivement obtenues à partir des temps de relaxation T₂ et T_{1\rho}. r_{mix}^{OS} représente la moyenne des deux valeurs $r_{mix,2}^{OS}$ et $r_{mix,1\rho}^{OS}$. Le temps de relaxation expérimental des protons CH₃ en l'absence de complexe de Gd(III) est T₁₀ = 9.43 s = T₂₀ = T_{1\rho0}.

	[Gd(dpaa)(D ₂ O) ₃]	[Gd(dpaa) ₂ (D ₂ O)] ³⁻	[Gd(dpaba)(D ₂ O) ₂] ⁻
C _{GdL} (mM)	4.26	4.25	4.23
T ₁ (ms)	72.6	85.6	72.03
T ₂ (ms)	56.9	68.3	56.5
T _{1ρ} (ms)	56.9	67.6	56.6
$r_{mix,2}^{OS}$ (mM ⁻¹ s ⁻¹)	3.74	3.09	3.80
$r_{mix,1\rho}^{OS}$ (mM ⁻¹ s ⁻¹)	3.74	3.14	3.78
r_{mix}^{OS} (mM ⁻¹ s ⁻¹)	3.74	3.12	3.79

Tableau III. 13 : Temps de relaxation expérimentaux et relaxivités mixtes des protons CH₃OD d'une sonde méthanol à 200 MHz et 25°C pour des solutions des complexes [Gd(dpaa)(D₂O)₃], [Gd(dpaa)₂(D₂O)]³⁻ et [Gd(dpaba)(D₂O)₂]⁻ dans D₂O aux concentrations C_{GdL}.

Le temps de relaxation des protons HOD de ces mêmes solutions a également été mesuré. Les valeurs expérimentales sont présentées dans le Tableau III. 14. Notons que le temps de relaxation expérimental des protons HOD en absence d'espèce paramagnétique est T₁₀ = 12.5 s = T₂₀ = T_{1ρ0}.

	[Gd(dpaa)(D ₂ O) ₃]	[Gd(dpaa) ₂ (D ₂ O)] ³⁻	[Gd(dpaba)(D ₂ O) ₂] ⁻
C _{GdL} (mM)	4.26	4.25	4.23
T ₁ (ms)	19.64	31.91	26.52
T ₂ (ms)	16.42	27.24	22.40
T _{1ρ} (ms)	-	-	22.57
r ₁ (mM ⁻¹ s ⁻¹)	11.93	7.36	8.90
r ₂ (mM ⁻¹ s ⁻¹)	14.28	8.62	10.53
r _{1ρ} (mM ⁻¹ s ⁻¹)	-	-	10.46

Tableau III. 14 : Temps de relaxation expérimentaux et relaxivités des protons HOD à 200 MHz et 25°C pour des solutions des complexes [Gd(dpaa)(D₂O)₃], [Gd(dpaa)₂(D₂O)]³⁻ et [Gd(dpaba)(D₂O)₂]⁻ dans D₂O aux concentrations C_{GdL}.

Toutes ces données ont été analysées selon le nouveau protocole détaillé au paragraphe II.3.1. La relaxivité mixte à champ infini r_{mix}^{OS} des protons de l'eau est tout d'abord déduite de celle des protons du méthanol à partir des coefficients de diffusion relatifs. Ensuite, elle permet d'accéder à la contribution de sphère externe des protons de l'eau r_1^{OS} puis, à leur contribution de sphère interne r_1^{IS} . L'analyse de cette dernière par les équations classiques permet de déterminer les coefficients τ_m et τ_R. Les valeurs des différents paramètres sont rassemblées dans le Tableau III. 15.

	[Gd(dpaa)(D ₂ O) ₃]	[Gd(dpaa) ₂ (D ₂ O)] ³⁻	[Gd(dpaba)(D ₂ O) ₂] ⁻
r_{mix}^{OS} (mM ⁻¹ s ⁻¹)	2.84	2.24	2.87
r_1^{OS} (mM ⁻¹ s ⁻¹)	2.53	1.91	2.57
r_1^{IS} (mM ⁻¹ s ⁻¹)	9.40	5.42	6.33
r_2^{IS} (mM ⁻¹ s ⁻¹)	11.12	6.17	7.30
$D_{m/GdL}$ (cm ² s ⁻¹)	$1.55 \cdot 10^{-5}$	1.39	$1.55 \cdot 10^{-5}$
$D_{w/GdL}$ (cm ² s ⁻¹)	$2.27 \cdot 10^{-5}$	2.11	$2.27 \cdot 10^{-5}$
$b_{m/GdL}$ (Å)	6.1	7.1	6.1
$b_{w/GdL}$ (Å)	5.5	6.5	5.5
τ_m (μs)	$0.05 < \tau_m < 0.15$	0.45	~0.23
τ_R (ps)	103	206	105

Tableau III. 15 : Analyse de la relaxivité des protons HOD à 200 MHz et 25°C pour des solutions des complexes [Gd(dpaa)(D₂O)₃], [Gd(dpaa)₂(D₂O)]³⁻ et [Gd(dpaba)(D₂O)₂]⁻ dans D₂O : contributions IS et OS et paramètres associés.

Les relaxivités du complexe [Gd(dpaa)₂(D₂O)]³⁻ ont été analysées de manière similaire à celle réalisée pour son analogue 1 : 1. De plus, le volume du complexe [Gd(dpaa)₂(D₂O)]³⁻ est considéré comme deux fois celui du complexe [Gd(dpaa)(D₂O)₃]. Ainsi, son rayon est égal à 5.1 Å, son coefficient de diffusion est égal à $0.33 \cdot 10^{-5}$ cm² s⁻¹ (c'est-à-dire celui du complexe [Gd(dpaa)(D₂O)₃] divisé par 2^{1/3}) et son temps de corrélation rotationnelle est également deux fois plus grand, soit 206 ps. La relaxivité de sphère interne r_1^{IS} indique la présence d'une molécule d'eau dans la sphère de coordination du complexe. Ce résultat est en accord avec les mesures de luminescence effectuées sur le complexe de Tb(III) et indique que pour ce ligand, la rupture du nombre de coordination a lieu au niveau du Gd(III). La vitesse d'échange des trois molécules d'eau dans la sphère de coordination du [Gd(dpaa)(D₂O)₃] est rapide, en accord avec la grande accessibilité du Gd(III) par les molécules d'eau. En revanche, le complexe [Gd(dpaa)₂(D₂O)]³⁻ est beaucoup plus encombré et le temps de résidence τ_m augmente à 0.45 μs.

La structure du ligand dpaba⁴⁻ est très proche de celle du ligand dpaa³⁻. De ce fait, nous pouvons considérer que les volumes de leurs complexes de Gd(III) et par conséquent leurs coefficients de diffusion, sont égaux. Leurs temps de corrélation rotationnelle sont également très proches (105 ps pour le [Gd(dpaba)(D₂O)₂]⁻ au lieu de 103 ps). La relaxivité de sphère interne r_1^{IS} est en accord avec les mesures de luminescence et la présence de deux molécules d'eau dans la sphère de coordination du complexe. La vitesse d'échange de ces molécules d'eau dans la sphère de coordination reste rapide mais est environ deux fois plus lente que celle de son analogue [Gd(dpaa)(D₂O)₃].

La relaxivité longitudinale des complexes en solution dans l'eau légère peut être calculée en divisant leur relaxivité mesurée dans D₂O par le rapport de viscosité $\eta(\text{D}_2\text{O})/\eta(\text{H}_2\text{O}) = 1.24$. Elle est égale à $9.62 \text{ mM}^{-1} \text{ s}^{-1}$ à 200 MHz et 25°C pour le complexe $[\text{Gd}(\text{dpaa})(\text{H}_2\text{O})_3]$, c'est-à-dire 2.5 fois supérieure à celle des agents de contraste les plus courants. Des mesures en fonction du pH indiquent que la relaxivité reste constante pour des valeurs de pD comprises entre 5.5 et 7.7 ($11.12 \text{ mM}^{-1} \text{ s}^{-1}$) alors qu'une valeur inférieure ($9.30 \text{ mM}^{-1} \text{ s}^{-1}$) est mesurée en milieu basique (pD = 11.6), en accord avec la formation d'espèces hydroxo solubles ne comportant que deux molécules d'eau dans leur sphère de coordination. Celle du complexe $[\text{Gd}(\text{dpaba})(\text{H}_2\text{O})_2]^-$ est égale à $7.18 \text{ mM}^{-1} \text{ s}^{-1}$, soit deux fois supérieure à celle du complexe $[\text{Gd}(\text{bpatcn})(\text{H}_2\text{O})]$ pour une constante de stabilité analogue.

Afin de vérifier la validité de la méthode utilisée ci-dessus, la vitesse d'échange des complexes $[\text{Gd}(\text{dpaa})(\text{H}_2\text{O})_3]$ et $[\text{Gd}(\text{dpaba})(\text{H}_2\text{O})_2]^-$ a également été étudiée par RMN ¹⁷O dans l'eau H₂O enrichie en ¹⁷O. Cette méthode est mieux adaptée que la méthode « proton » pour mesurer des temps de résidence courts ($\tau_m \ll T_{1e}$). Les profils de relaxivité et de déplacement chimique en fonction de la température sont représentés Figure III. 53.

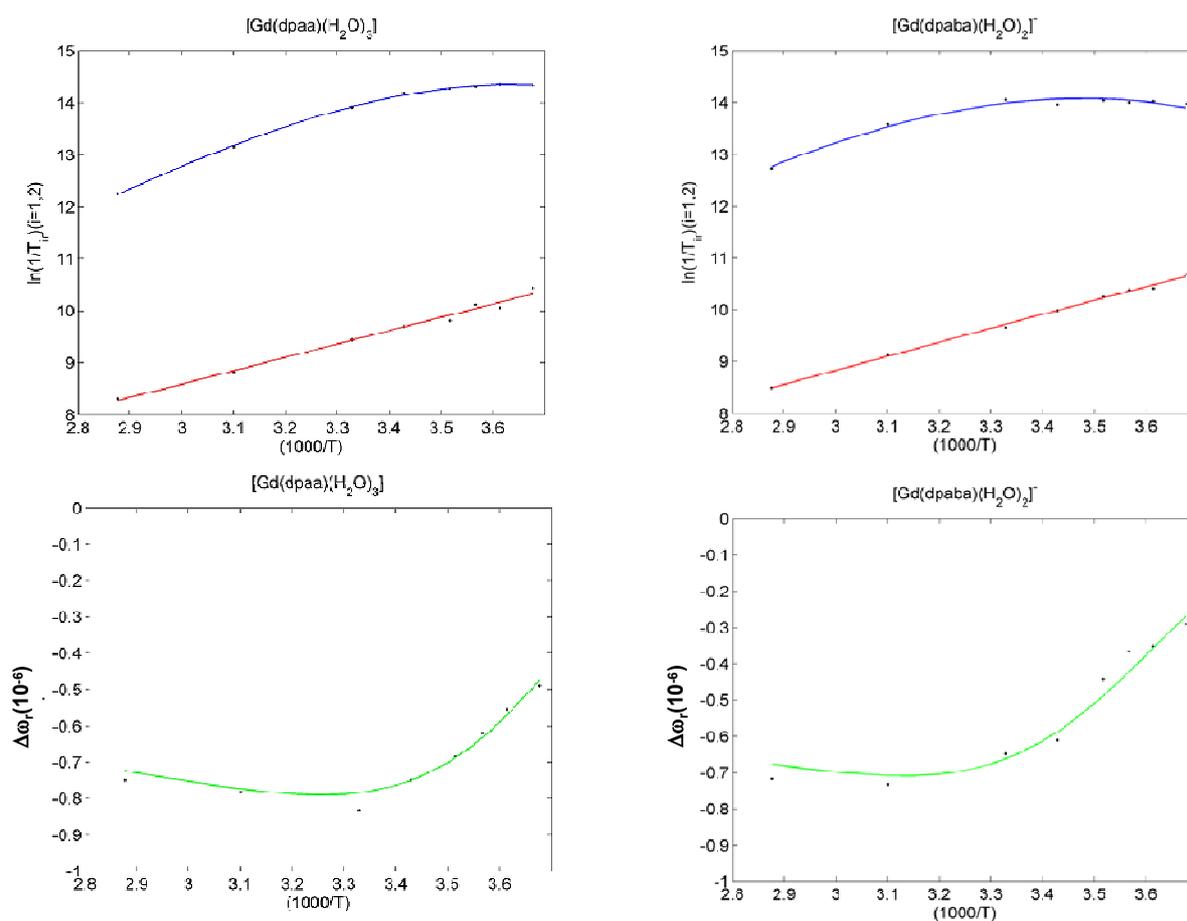


Figure III. 53 : Vitesses de relaxation longitudinales (en rouge), transversales (en bleu) et déplacements chimiques (en vert) de l'¹⁷O en fonction de la température. A gauche : $[\text{Gd}(\text{dpaa})(\text{H}_2\text{O})_3]$, à droite : $[\text{Gd}(\text{dpaba})(\text{H}_2\text{O})_2]^-$.

Pour chaque solution, l'ajustement simultané des trois courbes permet d'accéder aux différents paramètres répertoriés dans le Tableau III. 16. Les valeurs en gras ont été fixées aux valeurs reportées dans la bibliographie.^[40] Les valeurs des paramètres τ_v et Δ^2 sont données à titre indicatif.

	[Gd(dpaa)(H ₂ O) ₃]	[Gd(dpaba)(H ₂ O) ₂] ⁻
ΔH [kJ/mol]	39.1 ± 0.7	41.8 ± 1.6
k_{ex}^{298} [10 ⁶ s ⁻¹]	29 ± 2	12.2 ± 0.8
E_r [kJ/mol]	21.4 ± 1	22.6 ± 1
τ_R^{298} [ps]	78.5 ± 1	104.9 ± 5
E_v [kJ/mol]	5 ± 2	6.4 ± 0.2
τ_v^{298} [ps]	(1.88)	(1.36)
A/\hbar [10 ⁶ rad/s]	-3.8	-3.8
C_{out}	0	0
r_{GdO} [Å]	2.5	2.5
$\tau_{r(HW)}/\tau_{r(OW)}$	1	1
Δ^2 [10 ²⁰ s ⁻²]	(0.37)	(0.40)
$\chi(1+\eta^{2/3})^{1/2}$ [MHz]	7.58	7.58
q	3	2

Tableau III. 16 : Paramètres obtenus par ajustement des mesures RMN ¹⁷O pour les complexes [Gd(dpaa)(H₂O)₃] et [Gd(dpaba)(H₂O)₂]⁻. Les valeurs en gras ont été fixées pendant l'ajustement.

Les paramètres obtenus par l'analyse des données RMN ¹⁷O pour le complexe [Gd(dpaa)(H₂O)₃] sont cohérents avec les données obtenues de manière indépendante par l'étude RMN ¹H. En effet, une valeur de τ_R égale à 103 ps a été déterminée. En tenant compte du rapport des viscosités H₂O/D₂O, cette valeur correspond à un temps de corrélation rotationnelle égal à 83 ps dans l'eau légère. Ainsi, une variation inférieure à 6 % est observée entre les deux méthodes. De même, l'étude de la relaxivité en présence de méthanol a permis d'établir l'inégalité suivante : 0.05 μ s < τ_m < 0.15 μ s. Nous avons vu que la méthode RMN ¹⁷O était mieux adaptée à l'étude des échanges rapides. Les données sont en accord avec un temps de résidence très court : 0.03 μ s.

Pour le complexe [Gd(dpaba)(H₂O)₂]⁻, l'analyse des vitesses de relaxation et des déplacements chimiques de l'¹⁷O conduit à des valeurs similaires à celles obtenues pour le complexe [Gd(dpaa)(H₂O)₃]. Les valeurs de l'enthalpie d'activation ΔH et des énergies d'activation E_r et E_v sont très proches. En outre, le temps de corrélation rotationnelle est légèrement supérieur à celui avec le ligand dpaa³⁻. Ceci est lié à l'augmentation de la taille du complexe. En effet, une estimation grossière à partir du rapport des poids moléculaires donnerait une valeur de τ_R proche de 96 ps. Expérimentalement, nous obtenons 105 ps. La vitesse d'échange est rapide mais environ deux fois plus lente que celle du complexe [Gd(dpaa)(H₂O)₃], en adéquation avec ce qui avait été observé par la mesure de la relaxation des protons à 200 MHz.

En conclusion, l'échange des molécules d'eau dans les sphères de coordination des complexes $[\text{Gd}(\text{dpaa})(\text{H}_2\text{O})_3]$ et $[\text{Gd}(\text{dpaba})(\text{H}_2\text{O})_2]^-$ est significativement plus rapide que pour les complexes mono-aqua. Le complexe $[\text{Gd}(\text{dpaba})(\text{H}_2\text{O})]^-$ possède une cinétique d'échange de l'eau en première sphère ($k_{\text{ex}} = 12.2 \cdot 10^6 \text{ s}^{-1}$) analogue à celle du complexe $[\text{Gd}(\text{DO3A})(\text{H}_2\text{O})_2]$ ($k_{\text{ex}} = 11 \cdot 10^6 \text{ s}^{-1}$). Pour ce dernier, l'échange de l'eau est 1.4 fois plus rapide que celui observé pour son analogue mono-aqua $[\text{Gd}(\text{DOTA})(\text{H}_2\text{O})]^-$ ($k_{\text{ex}} = 4.1 \cdot 10^6 \text{ s}^{-1}$) et un mécanisme dissociatif a été mis en évidence. Cette rapidité a été corrélée à l'existence d'un équilibre dynamique entre les deux espèces $[\text{Gd}(\text{DO3A})(\text{H}_2\text{O})]$ et $[\text{Gd}(\text{DO3A})(\text{H}_2\text{O})_2]$ associé à une faible différence d'énergie entre les deux structures. L'augmentation de la vitesse d'échange est toutefois limitée par le caractère neutre du complexe. La présence d'un équilibre de solvation a également été envisagée pour le complexe $[\text{Gd}(\text{tpaa})(\text{H}_2\text{O})_2]$ pour lequel un mécanisme associatif, associé à un état de transition déca-coordiné avait été postulé. Le complexe de Gd(III) avec le ligand PCTA-[12]³⁻ donne également lieu à une vitesse d'échange analogue ($k_{\text{ex}} = 14 \cdot 10^6 \text{ s}^{-1}$) et à un mécanisme associatif.^[81] Au vu de ces exemples, les deux mécanismes pourraient être envisagés pour expliquer la vitesse d'échange des complexes $[\text{Gd}(\text{dpaba})(\text{H}_2\text{O})_2]^-$ et $[\text{Gd}(\text{dpaa})(\text{H}_2\text{O})_3]$.

La relaxation longitudinale des protons des solutions de complexes $[\text{Gd}(\text{dpaa})(\text{H}_2\text{O})_3]$ et $[\text{Gd}(\text{dpaba})(\text{H}_2\text{O})_2]^-$ dans H_2O a également été mesurée à bas champ. Les profils NMRD sont représentés Figure III. 54.

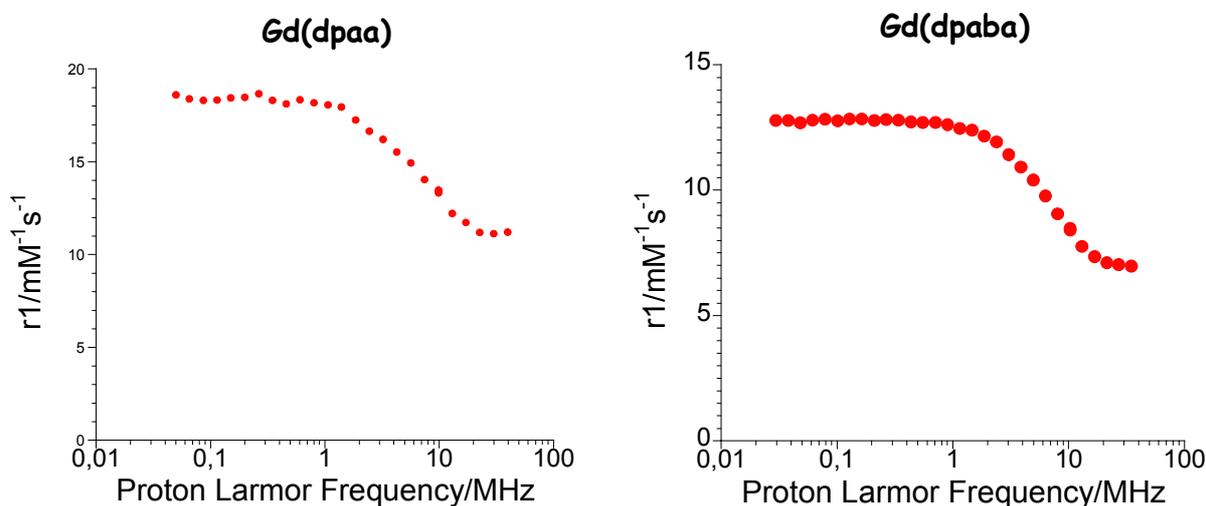


Figure III. 54 : Profils expérimentaux de la relaxivité des protons H_2O pour les solutions des complexes $[\text{Gd}(\text{dpaa})(\text{H}_2\text{O})_3]$ et $[\text{Gd}(\text{dpaba})(\text{H}_2\text{O})_2]^-$ dans H_2O .

La relaxivité du complexe $[\text{Gd}(\text{dpaa})(\text{H}_2\text{O})_3]$ est égale à $9.3 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ à 20 MHz et 25°C . Une relaxivité plus faible avait été observée pour le complexe $[\text{Gd}(\text{EDTA})(\text{H}_2\text{O})_3]$ de taille inférieure ($7.15 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$, 20 MHz, 40°C). K. Raymond et ses collaborateurs ont récemment développé deux nouveaux

complexes avec des ligands de la famille HOPO possédant 3 molécules d'eau en sphère interne. Des relaxivités de l'ordre de $13 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ (20 MHz, 25°C) ont été mesurées.^[82] Ces valeurs s'expliquent en partie par une corrélation des complexes ralentie par rapport à celle du complexe $[\text{Gd}(\text{dpaa})(\text{H}_2\text{O})_3]$: $\tau_R \sim 150 \text{ ps}$ au lieu de 79 ps pour le complexe avec le ligand tpaa^{3-} .

La relaxivité du complexe $[\text{Gd}(\text{dpaba})(\text{H}_2\text{O})_2]$ est égale à $7.2 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ à 20 MHz et 25°C. Elle est intermédiaire entre celle du complexe $[\text{Gd}(\text{DO3A})(\text{H}_2\text{O})_2]$ ($6.0 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ à 20 MHz et 25°C) et celle du complexe avec le ligand TREN-Me-3,2-HOPO ($10.5 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ à 20 MHz et 37°C) (Figure III. 36).^[59]

Pour chacun des systèmes, le rapport de la relaxivité à bas champ (0.1 MHz) sur celle à champ moyen (30-35 MHz) est en accord avec une relaxation électronique « classique » à bas champ, c'est-à-dire intermédiaire entre celles des complexes $[\text{Gd}(\text{DTPA})(\text{H}_2\text{O})]^{2-}$ et $[\text{Gd}(\text{DOTA})(\text{H}_2\text{O})]^-$.

II.3.3. Relaxivité du complexe $[\text{Gd}(\text{mpatcn})(\text{H}_2\text{O})_2]$

Afin d'étudier l'influence de l'architecture de la plateforme 1,4,7-triazacyclononane par rapport au pivot amine centrale, nous avons également étudié les propriétés de relaxivité du complexe de $[\text{Gd}(\text{mpatcn})(\text{H}_2\text{O})_2]$.

La relaxivité des protons HOD d'une solution de complexe $[\text{Gd}(\text{mpatcn})(\text{D}_2\text{O})_2]$ à 45 MHz et 25°C est en accord avec la présence de deux molécules d'eau en première sphère de coordination. Ce résultat vient conforter le résultat des mesures de luminescence sur les complexes d'Eu(III) et de Tb(III).

	$[\text{Gd}(\text{mpatcn})(\text{D}_2\text{O})_2]$
C_{GdL} (mM)	4.18
T_1 (ms)	33.30
T_2 (ms)	28.05
r_1 ($\text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$)	7.16
r_2 ($\text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$)	8.51

Tableau III. 17 : Relaxivités longitudinales et transversales du complexe $[\text{Gd}(\text{mpatcn})(\text{D}_2\text{O})_2]$ dans D_2O à 45 MHz et 25°C.

Le profil NMRD de la même solution de complexe $[\text{Gd}(\text{mpatcn})(\text{D}_2\text{O})_2]$ a également été mesuré à 25°C (Figure III. 55). Le rapport des relaxivités à 0.1 MHz et à 35 MHz vaut 1.7, à comparer avec 1.9 pour le complexe avec le ligand bpatcn^{3-} et à 1.8 pour celui avec le ligand dpaba^{4-} , indiquant que les trois complexes possèdent une relaxation électronique similaire à bas champ.

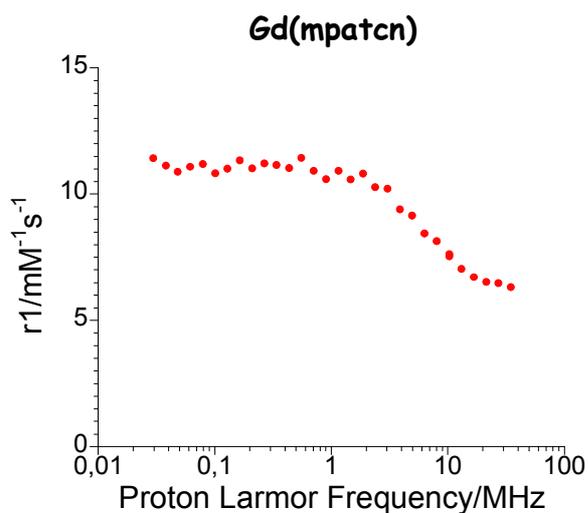


Figure III. 55 : Profil expérimental de la relaxivité des protons HOD pour une solution de complexe [Gd(mpatcn)(D₂O)₂] dans D₂O.

De manière similaire aux complexes présentés ci-dessus, la relaxivité du complexe [Gd(mpatcn)(D₂O)₂] a été étudiée à 200 MHz et 25°C dans D₂O et en présence de CH₃OD. Les temps de relaxation des protons du méthanol ainsi que la relaxivité mixte associée sont rassemblées dans le Tableau III. 18.

	[Gd(mpatcn)(D ₂ O) ₂]
C _{GdL} (mM)	3.79
T ₁ (s)	111.4
T ₂ (s)	87.3
T _{1ρ} (s)	87.0
$r_{mix,2}^{OS}$ (mM ⁻¹ s ⁻¹)	2.73
$r_{mix,1\rho}^{OS}$ (mM ⁻¹ s ⁻¹)	2.75
r_{mix}^{OS} (mM ⁻¹ s ⁻¹)	2.74

Tableau III. 18 : Temps de relaxation expérimentaux et relaxivités mixtes des protons CH₃OD d'une sonde méthanol à 200 MHz et 25°C pour le complexe [Gd(mpatcn)(D₂O)₂] dans D₂O à la concentration C_{GdL}.

Le temps de relaxation des protons HOD a également été mesuré. Les valeurs expérimentales sont présentées dans le Tableau III. 14.

[Gd(mpatcn)(D ₂ O) ₂]	
C _{GdL} (mM)	3.79
T ₁ (s)	35.80
T ₂ (s)	29.19
T _{1ρ} (s)	29.68
r ₁ (mM ⁻¹ s ⁻¹)	7.35
r ₂ (mM ⁻¹ s ⁻¹)	9.02
r _{1ρ} (mM ⁻¹ s ⁻¹)	8.87

Tableau III. 19 : Temps de relaxation expérimentaux et relaxivités mixtes des protons HOD à 200 MHz et 25°C pour le complexe [Gd(mpatcn)(D₂O)₂] dans D₂O à la concentration C_{GdL}.

Les valeurs des paramètres obtenus après analyse sont rassemblées ci-dessous (Tableau III. 20).

[Gd(mpatcn)(D ₂ O) ₂]	
r _{mix} ^{OS} (mM ⁻¹ s ⁻¹)	2.08
r ₁ ^{OS} (mM ⁻¹ s ⁻¹)	1.77
r ₁ ^{IS} (mM ⁻¹ s ⁻¹)	5.57
r ₂ ^{IS} (mM ⁻¹ s ⁻¹)	6.66
D _{m/GdL} (cm ² s ⁻¹)	1.55·10 ⁻⁵
D _{w/GdL} (cm ² s ⁻¹)	2.27·10 ⁻⁵
b _{m/GdL} (Å)	6.1
b _{w/GdL} (Å)	5.5
τ _m (μs)	0.63
τ _R (ps)	103

Tableau III. 20 : Analyse de la relaxivité du complexe [Gd(mpatcn)(D₂O)₂] (HOD, 200 MHz, 25°C) : contributions IS et OS et paramètres associés.

Encore une fois, les paramètres décrivant la diffusion du complexe sont considérés égaux à ceux utilisés pour le complexe [Gd(dpaa)(D₂O)₃]. Le coefficient de corrélation rotationnelle est identique (103 ps). En revanche, la vitesse d'échange de l'eau est plus lente que celle du complexe [Gd(dpaba)(H₂O)₂] (k_{ex} = 1.6·10⁶ s⁻¹) mais reste environ 2.5 fois celle de l'analogue mono-aqua [Gd(bpatcn)(H₂O)] (k_{ex} = 0.6·10⁶ s⁻¹). De manière similaire, la vitesse d'échange du complexe [Gd(DO3A)(H₂O)₂] (k_{ex} = 11·10⁶ s⁻¹) est 1.4 fois plus rapide que celle de son analogue nona-coordiné [Gd(DOTA)(H₂O)]⁻ (k_{ex} = 4.5·10⁶ s⁻¹).^[58]

D'après les exemples étudiés, il semblerait que la plateforme triazacyclononane, quand elle est substituée par des groupements acétate ou picolinate ne conduise pas à des complexes à échange d'eau

rapide. La détermination des mécanismes d'échange pourrait permettre d'expliquer les différences de vitesses observées.

La relaxivité du complexe $[\text{Gd}(\text{mpatcn})(\text{H}_2\text{O})_2]$ dans l'eau légère est $r_1 = 5.92 \text{ mM}^{-1} \text{ s}^{-1}$ à 200 MHz et 25°C. Pour comparaison, la relaxivité du $[\text{Gd}(\text{DO3A})(\text{H}_2\text{O})_2]$ est égale à $6.0 \text{ mM}^{-1} \text{ s}^{-1}$ à 20 MHz et 25°C.

II.3.4. Interactions avec les anions endogènes

Afin de mieux comprendre la relation entre la structure du complexe et la formation de complexes ternaires, nous avons étudié l'interaction des complexes $[\text{Gd}(\text{dpaa})(\text{H}_2\text{O})_3]$, $[\text{Gd}(\text{dpaba})(\text{H}_2\text{O})_2]^-$ et $[\text{Gd}(\text{mpatcn})(\text{H}_2\text{O})_2]$ avec plusieurs anions présents dans le milieu extracellulaire (Figure III. 56). Pour ce faire, les temps de relaxation longitudinaux des protons de l'eau ont été mesurés pour des solutions de complexe dans D_2O , en présence de 200 équivalents d'anions. Les valeurs de relaxivité correspondantes sont reportées dans le Tableau III. 21.

anion	$[\text{Gd}(\text{dpaa})(\text{D}_2\text{O})_3]$		$[\text{Gd}(\text{dpaba})(\text{D}_2\text{O})_2]^-$		$[\text{Gd}(\text{mpatcn})(\text{D}_2\text{O})_2]$	
	r_1 ($\text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$)	Δr_1 ($\text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$)	r_1 ($\text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$)	Δr_1 ($\text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$)	r_1 ($\text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$)	Δr_1 ($\text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$)
-	11.64	-	8.80	-	7.29	-
acétate	9.19	-2.45	-	-	-	-
lactate	8.24	-3.40	5.78	-3.02	3.99	-3.30
biphosphate	7.75	-3.89	-	-	-	-
bicarbonate	6.30	-5.34	3.03	-5.77	2.61	-4.68
oxalate	6.15	-5.49	-	-	2.57	-4.72
citrate	2.87	-8.77	6.00	-2.8	3.87	-3.4

Tableau III. 21 : Relaxivité longitudinale des complexes dans D_2O en présence de 200 équivalents d'anions et différences de relaxivité $\Delta r_1 = r_{1,\text{avec anion}} - r_{1,\text{sans anion}}$ à pD ~7.4, 25°C et 200 MHz : $[\text{GdL}] = 3 \text{ mM}$, $[\text{anion}] = 0.6 \text{ M}$ avec $\text{L} = \text{dpaa}^{3-}$, dpaba^{4-} et mpatcn^{3-} .

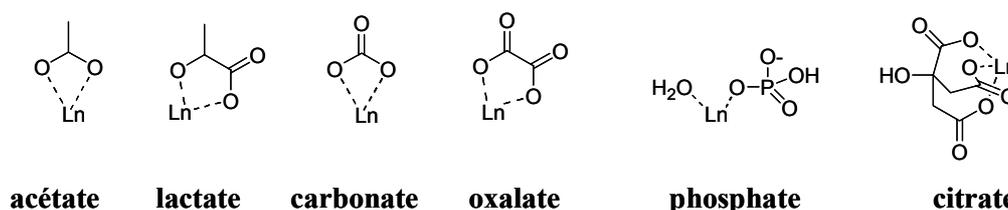


Figure III. 56 : Anions étudiés et leur mode de liaison avec les lanthanides. D'après la référence [54].

Complexe $[\text{Gd}(\text{dpaa})(\text{H}_2\text{O})_3]$

Une diminution significative de la relaxivité du complexe $[\text{Gd}(\text{dpaa})(\text{H}_2\text{O})_3]$ est observée avec chaque anion, indiquant le déplacement d'une ou plusieurs molécules d'eau. Une analyse plus détaillée des données peut être réalisée en tenant compte des résultats obtenus par l'analyse de la relaxivité à haut champ. Les contributions de sphère externe et interne sont respectivement $r_1^{\text{OS}} = 2.53 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ et

$r_1^{IS} = 9.40 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$, soit $3.13 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ par molécule d'eau en première sphère. De plus, les anions endogènes étant de petite taille par rapport au complexe [Gd(dpaa)], nous considérerons en première approximation que la dynamique du complexe ternaire est identique à celle du complexe libre. Nous considérerons également, pour une première approximation que la contribution des protons échangeable sur les anions (en particulier pour le lactate et le citrate) sont négligeables. Ainsi, les relaxivités théoriques des adduits peuvent être calculés à partir de la formule suivante :

$$r_1^{adduit} = 2.53 + q^{(b)} \times 3.13 \quad [mM^{-1}s^{-1}] \quad \text{Equation III. 10}$$

où $q^{(b)}$ est le nombre de molécules d'eau dans la sphère de coordination du complexe ternaire. Des relaxivités égales à 2.5, 5.7, 8.8 sont attendues pour des valeurs de $q^{(b)}$ égales à 0, 1 et 2. Cela suggère que les trois molécules d'eau sont déplacées par le citrate, deux par les ions bicarbonate et oxalate et une seule par l'acétate le biphosphate et le lactate. Excepté le cas du citrate, la relaxivité reste élevée ($> 6 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$). De plus, pour une solution équimolaire de complexe et de citrate, une relaxivité élevée ($7.9 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$) a été mesurée.

La constante apparente de formation des complexes ternaires peut être déduite de la variation de la relaxivité moyenne des espèces en solution en fonction de la concentration en anion. Considérons l'équilibre de formation du complexe ternaire : $GdL + A = GdLA$. La relaxivité moyenne \bar{r}_1 peut être déterminée par la relation suivante :

$$\bar{r}_1 = \frac{[GdL]_{eq}}{C_{Gd}} r_1^{(f)} + \left(1 - \frac{[GdL]_{eq}}{C_{Gd}}\right) r_1^{(b)} \quad \text{Equation III. 11}$$

avec C_{Gd} , la concentration totale en ions Gd(III), $[GdL]_{eq}$ la concentration de complexe à l'équilibre, $r_1^{(f)}$ la relaxivité du complexe libre et $r_1^{(b)}$ la relaxivité de l'adduit.

La relaxivité du complexe [Gd(dpaa)] a été mesurée à différentes concentration de bicarbonate et de citrate. L'analyse des courbes ci-dessous a permis de déterminer les relaxivités $r_1^{(b)}$ et les constantes de formation associées : $r_1^{(b)} = 2.7 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$, $\log K_a \sim 3.7$ pour le citrate à $pD = 7.6$ et $r_1^{(b)} = 5.35 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$, $\log K_a \sim 1.8$ pour le bicarbonate à $pD = 7.4$.

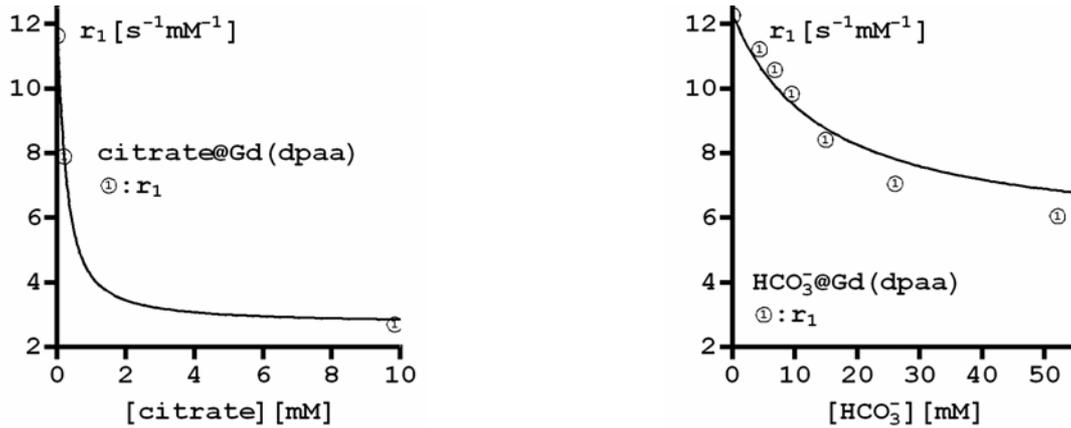


Figure III. 57 : Titration du complexe $[Gd(dpaa)(H_2O)_3]$: mesure de la relaxivité à 200 MHz et 25°C en fonction de la concentration en anion. A gauche : citrate de potassium, $pD = 7.6$; à droite : $KHCO_3$, $pD = 7.4$.

Les constantes de formation réelles des adduits peuvent être calculées à partir des constantes de formation apparentes en tenant compte des différents états de protonation des anions (Equation III. 12).

$$K = K_a \left(1 + \frac{[H^+]}{K_{a1}} + \frac{[H^+]^2}{K_{a1}K_{a1}} \right) \quad \text{Equation III. 12}$$

La constante d'affinité pour le bicarbonate est comparable à celle du complexe $[Gd(DO3A)(H_2O)_2]$ ($\log K = 4.7$ au lieu de 4.8). Pour le citrate, l'interaction est comparable à celle avec le $[Gd(EDTA)(H_2O)_3]^-$ ($\log K = 3.7$ au lieu de 3.56).^[53]

Complexes $[Gd(dpaba)(H_2O)_2]^-$ et $[Gd(mpatcn)(H_2O)_2]$

Comme dans le cas du complexe $[Gd(dpaa)(H_2O)_3]$, l'ajout de 200 équivalents d'ion lactate conduit au déplacement d'une molécule d'eau dans la sphère de coordination des complexes et l'ajout de 200 équivalents de bicarbonate conduit au déplacement des deux molécules d'eau de sorte que seule la contribution de sphère externe est observée. Ainsi, aucune influence de la charge ou de l'architecture du ligand (amine tertiaire *versus* plateforme triazacyclononane) n'est observée. Notons que l'équipe de K. Raymond n'avait pas observé d'influence de la charge pour la coordination des oxoanions avec les ligands de type TREN-HOPO : aucune diminution n'est observée pour le complexe chargé négativement, tout comme pour celui chargé positivement.^[62]

En revanche, une différence notable est observée en présence de l'ajout de 200 équivalents de citrate. Pour les complexes $[Gd(dpaba)(H_2O)_2]^-$ et $[Gd(mpatcn)(H_2O)_2]$, une faible diminution de la relaxivité est observée, en accord avec le déplacement d'une molécule d'eau. De même, une seule molécule d'eau est déplacée dans le cas du complexe $[Gd(DO3A)(H_2O)_2]$. L'affinité importante du citrate pour le complexe tris-aqua est probablement liée à la formation d'un complexe ternaire dans lequel le citrate serait lié de manière tridente avec un effet chélate important.

II.3.5. Interaction avec l'albumine sérique

L'albumine sérique est la protéine la plus abondante dans le plasma. Sa concentration est de 4.5 % m/v soit 0.68 mM. Du fait de sa similarité, l'albumine de sérum de bœuf (Bovin Serum Albumin ou BSA) est souvent utilisée comme modèle de l'albumine de sérum humain. C'est une macromolécule de poids moléculaire 66.4 kDa, présente sous sa forme N à pH physiologique ($4.3 < \text{pH} < 8$) (Figure III. 58). Elle est formée d'un enchaînement de 606 acides aminés. Entre autres, trois unités tryptophane (Trp) peuvent être à l'origine d'interaction de type hydrophobe avec les ligands.

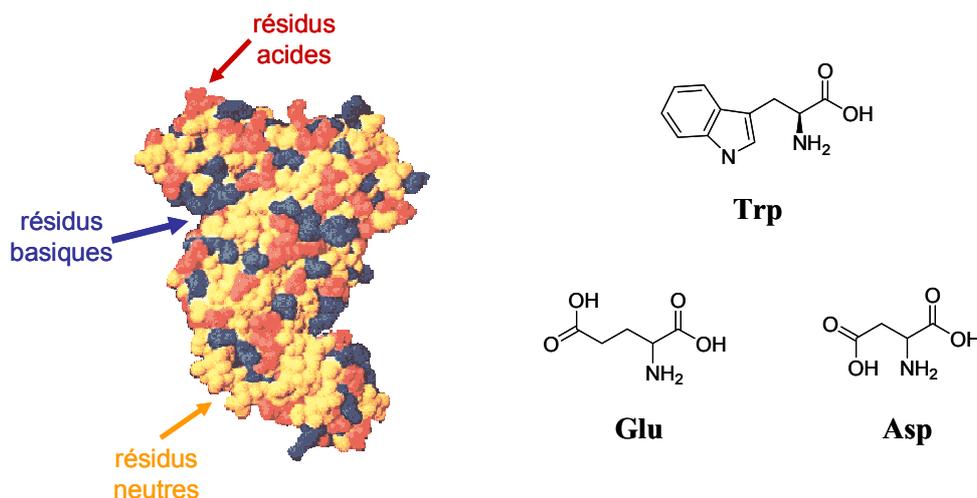


Figure III. 58 : Représentation schématique de la BSA dans sa forme N et des résidus Trp, Glu et Asp.

Comme nous l'avons vu en introduction, ces interactions ont été mises à profit pour le développement d'agents de contraste pour l'angiographie (comme le MS-325).^[83-86] En effet, la formation d'un adduit macromoléculaire permet de ralentir la rotation du complexe et par conséquent, d'augmenter sa relaxivité (Figure III. 58).^[1, 2] De plus, 99 résidus possèdent une chaîne latérale anionique (glutamine ou Glu, asparagine ou Asp) et sont susceptibles d'interagir avec le centre Gd(III). Cette interaction conduit au déplacement d'une ou plusieurs molécules d'eau liées au métal. Il en résulte donc deux effets opposés : une augmentation du temps de corrélation rotationnelle τ_R , favorable à une augmentation de la relaxivité mais aussi une diminution de l'hydratation du complexe, défavorable. De plus, il est tout à fait envisageable que la surface accidentée de la protéine gêne l'accès des molécules d'eau au Gd(III). Cela se traduit par un ralentissement de la vitesse d'échange des molécules d'eau dans la première sphère de coordination. La formation de complexes ternaires avec l'albumine n'a pas été observée pour les complexes possédant une seule molécule d'eau dans leur sphère de coordination.^[1] En revanche, ce mode d'interaction ne peut être exclu lorsque la solvation du complexe est plus importante ($q \geq 2$). Par exemple, pour deux complexes analogues au $[\text{Gd}(\text{DO3A})(\text{H}_2\text{O})_2]$, S. Aime et ses collaborateurs ont mis en évidence le déplacement des deux molécules d'eau en sphère interne par la mesure du nombre d'hydratation en présence de protéines.^[87] Ce résultat a été interprété par la coordination des fonctions carboxylate au centre métallique.

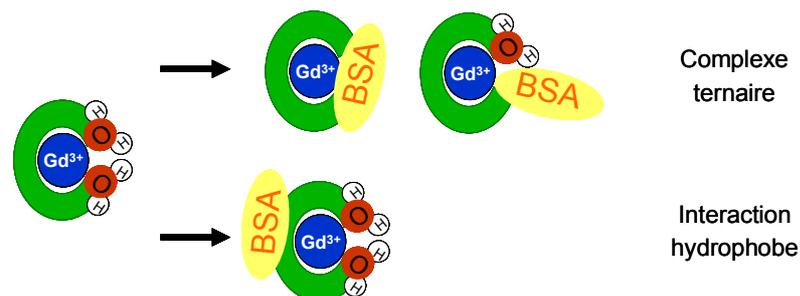


Figure III. 59 : Représentation schématique des différents modes d'interaction avec la BSA.

Tous les ligands étudiés ici possèdent des groupements pyridines hydrophobes et certains possèdent deux voire trois molécules d'eau dans leur première sphère de coordination. Ces deux facteurs nous ont incité à explorer l'interaction des complexes avec une albumine sérique. L'albumine de sérum de bœuf (BSA, Fraction V, Aldrich) sera utilisée.

En tant qu'expérience préliminaire, les profils NMRD des solutions de complexe en présence de 4.5% m/v de BSA ont été comparés aux profils en solution aqueuse. Nous avons vu en introduction que la formation d'un adduit macromoléculaire, se traduit en général par la présence d'un maximum aux alentours de 30 à 60 MHz. La comparaison des deux profils devrait ainsi nous permettre d'effectuer une première interprétation qualitative de l'interaction avec la protéine. Plusieurs causes peuvent être attribuées à l'absence de maximum :

- i) aucune interaction n'a lieu ou celle-ci est très faible
- ii) l'interaction de la protéine déplace toutes les molécules d'eau de sphère interne ;
- iii) la vitesse d'échange des molécules d'eau en première sphère de l'adduit est lente et limite la relaxivité^[85]
- iv) la présence de mouvements de rotation intramoléculaires empêche le ralentissement global de la rotation de la macromolécule.^[88]

Les profils des différents complexes sont présentés Figure III. 60.

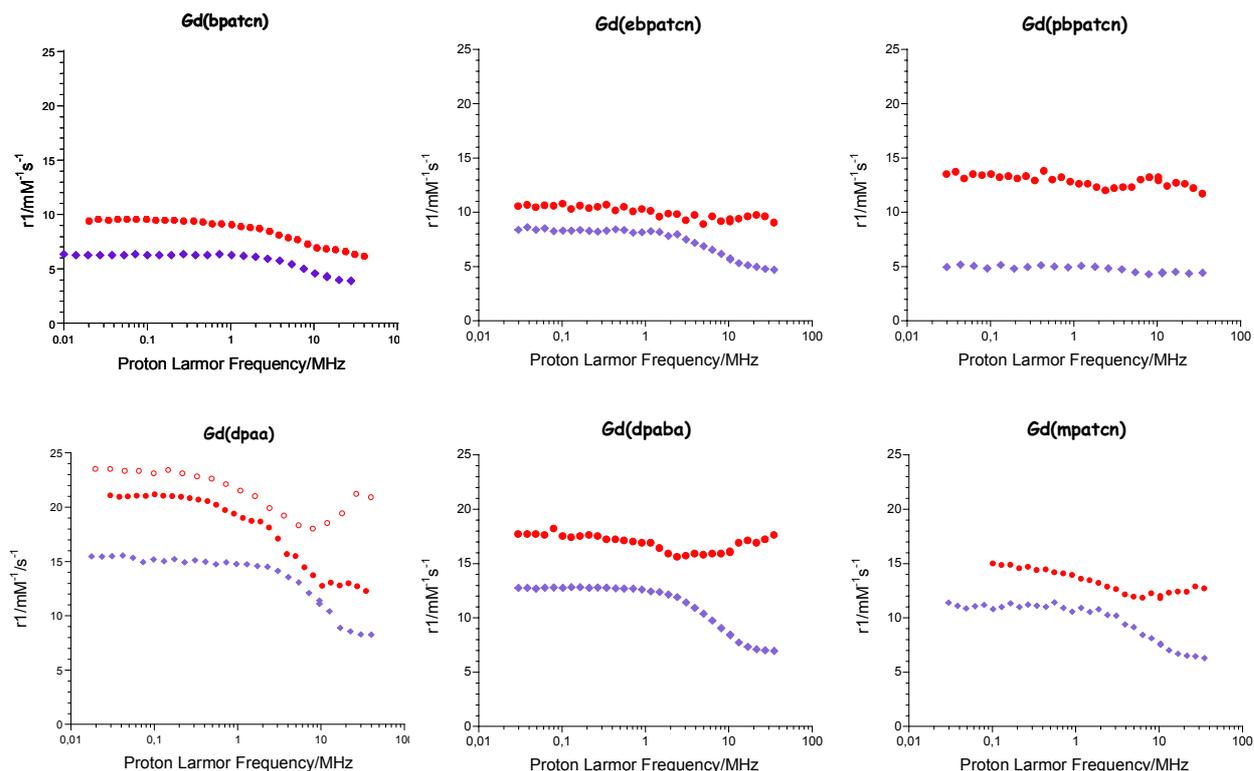


Figure III. 60 : Profils NMRD de solutions de complexes de Gd(III) dans H₂O avec les différents ligands ($C_{\text{Gd}} \sim 0.25$ mM) en absence (♦) et en présence de BSA (4.5% m/v soit ~ 0.68 mM) : dans H₂O pure à pH = 7.4 (♦) et dans le tampon PBS (pH = 7.4) (○).

Pour tous les complexes, l'ajout de la protéine conduit à une augmentation significative de la relaxivité quel que soit le champ. Cette augmentation est fort probablement liée à la formation d'un adduit macromoléculaire dont le temps de corrélation rotationnelle est lent.

Toutefois, deux autres facteurs pourraient donner lieu à une augmentation de la relaxivité. Tout d'abord, il faut vérifier que, aux concentrations utilisées, la viscosité de la solution n'est pas altérée par la présence de la protéine. De plus certains auteurs ont évoqué une augmentation de la relaxivité due à la présence d'une seconde sphère d'hydratation au niveau de la protéine.^[89] Nous allons montrer que ces deux hypothèses sont insuffisantes pour expliquer les relaxivités obtenues.

La contribution diamagnétique d'une solution 4.5% m/v de protéine a été mesurée. Elle peut être considérée égale à celle de l'eau ($R_1^0 = 0.4$ s⁻¹). De plus, le coefficient d'autodiffusion de l'eau en présence de protéine a également été mesuré ($D = 2.01 \cdot 10^{-5}$ cm² s⁻¹). Ce résultat est en accord avec les valeurs précédemment reportées dans la littérature.^[90] Le coefficient mesuré est très peu différent de celui de l'eau pure ($2.5 \cdot 10^{-5}$ cm² s⁻¹) et indique un faible ralentissement des molécules d'eau en présence de la protéine. Nous pouvons donc considérer que la viscosité n'est pas affectée par la présence de BSA 4.5% m/v. Enfin, les contributions de sphère externe et de seconde sphère peuvent être estimées par la mesure de la relaxivité d'un complexe analogue ne possédant pas de molécules d'eau dans sa sphère de coordination. Pour cela, la relaxivité du complexe [Gd(tpatcn)] a été mesurée

en présence de BSA 4.5%. Le profil NMRD est représenté Figure III. 61. Sa relaxivité augmente en présence de BSA. Cependant, l'accroissement reste au moins deux fois inférieur à ce qui a été observé avec les autres complexes.

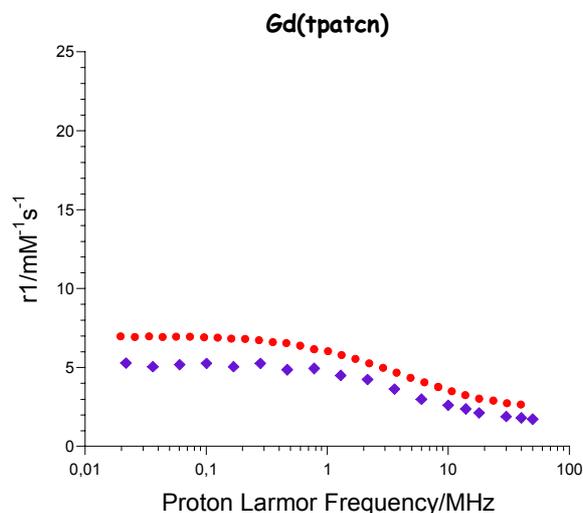


Figure III. 61 : Profils NMRD de solutions du complexe [Gd(tpatcn)] ($C_{Gd} \sim 0.25$ mM dans H_2O) en absence (◆) et en présence de BSA (4.5% m/v soit ~ 0.68 mM) : dans H_2O à pH = 7.4 (●).

En conclusion, une interaction favorable a lieu entre les complexes mono-aqua et la protéine. Celle-ci conduit à une augmentation de la relaxivité à 20 MHz de 66 % pour le complexe [Gd(bpatcn)(H_2O)]. Cependant, une diminution de la relaxivité est observée aux champs moyens (10 - 30 MHz), en accord avec la vitesse d'échange lente des molécules d'eau en première sphère de coordination. Les complexes [Gd(bpatcn)(H_2O)] et [Gd(ebpatcn)(H_2O)] ayant des structures très proches, nous pouvons considérer en première approximation, que leurs affinités sont similaires. Toutefois, une augmentation de 100% de la relaxivité à 20 MHz du deuxième complexe est observée en présence de BSA. De plus, cette augmentation est associée à la présence d'une augmentation de la relaxivité entre 20 et 30 MHz. Ce résultat est en accord avec la vitesse d'échange rapide des molécules d'eau dans la sphère de coordination du complexe [Gd(ebpatcn)(H_2O)]. Une augmentation importante est observée dans le cas du complexe [Gd(pbpatcn)(H_2O)] dont la relaxivité en présence de BSA est égale à $11.5 \text{ mM}^{-1} \text{ s}^{-1}$. Pour comparaison, des relaxivités comprises entre 10 et $20 \text{ mM}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ont été obtenues par K. Raymond et ses collaborateurs pour les complexes de Gd(III) avec les ligands dérivés du TREN-Me-3,2-HOPO.^[91]

Même lorsque le nombre d'hydratation est supérieur ou égal à deux, la présence de la protéine n'entraîne pas une extinction de la relaxivité de nos complexes. Ceci semble indiquer qu'une fois liés à la BSA, ils conservent au moins une molécule d'eau dans leur première sphère de coordination. Notamment, la relaxivité à 20 MHz du complexe [Gd(dpaba)(H_2O)] est plus que doublée en présence de BSA. Une augmentation plus faible est observée pour le complexe [Gd(mpatcn)(H_2O)] dont la vitesse d'échange de l'eau en sphère interne est plus lente. Pour le complexe [Gd(dpaa)(H_2O)₃],

l'augmentation de la relaxivité en présence d'une solution aqueuse de BSA est faible et indique un possible remplacement des molécules d'eau dans la sphère de coordination du complexe. Cependant, sa relaxivité est doublée en présence de tampon phosphate PBS. Une étude détaillée de l'affinité du complexe $[Gd(dpaa)(H_2O)_3]$ pour la protéine dans l'eau à pH ~ 7.4 à été réalisée. Elle est présentée ci-dessous.

Dans l'hypothèse d'une interaction mono-site, l'équilibre de formation de l'adduit GdL-BSA s'écrit de la manière suivante : $GdL + BSA = GdL-BSA$. La relaxivité moyenne \bar{r}_i est obtenue par l'Equation III. 13 utilisée précédemment pour l'étude de la coordination des anions où $r_i^{(f)}$ et $r_i^{(b)}$ ($i = 1,2$) sont respectivement les relaxivités du complexe libre et de l'adduit GdL-BSA.

$$\bar{r}_i = \frac{[GdL]_{eq}}{C_{Gd}} r_i^{(f)} + \left(1 - \frac{[GdL]_{eq}}{C_{Gd}}\right) r_i^{(b)} \quad (i = 1,2) \quad \text{Equation III. 13}$$

Plusieurs déterminations de la constante d'affinité d'un complexe pour la BSA (ou la HSA) ont été reportées dans la littérature.^[91-94] Classiquement, la constante d'affinité et la relaxivité $r_1^{(b)}$ sont obtenues par ajustement des relaxivités mesurées pour des solutions de complexe GdL en présence de concentrations croissantes en BSA. Une telle titration a été réalisée à 25°C et 60 MHz soit environ 1.5 T. Les relaxivités moyennes (longitudinale \bar{r}_1 et transversale \bar{r}_2) ont été mesurées. La courbe de dosage est représentée Figure III. 61.

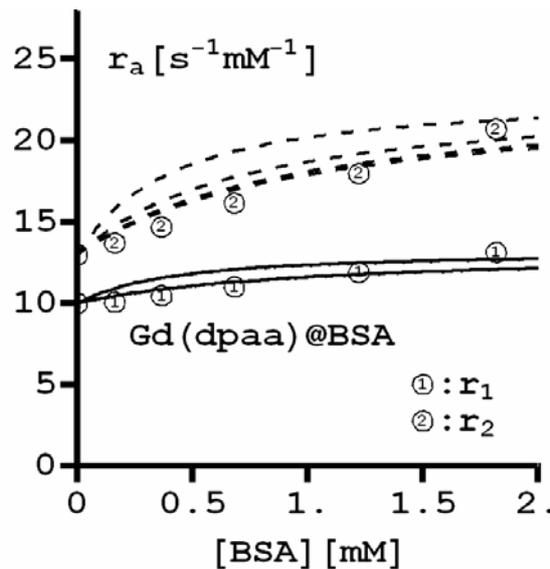


Figure III. 62 : Titration du complexe $[Gd(dpaa)(H_2O)_3]$ par des concentrations croissantes de BSA. Relaxivités longitudinale r_1 et transversale r_2 dans H_2O , 60 MHz, 25°C : expérimentales (① et ②) et calculées pour $n_{BSA} = 2, 4, 10, 20$ (—, - - -).

Un tel profil de relaxivité peut être ajusté indifféremment par plusieurs de paramètres K_a et $r_i^{(b)}$: une constante faible associée à une forte relaxivité de l'adduit ou une constante plus forte et une relaxivité inférieure. De plus, dans le cas d'interactions hydrophobes, plusieurs sites de liaison des complexes à la BSA ont été identifiés.^[85] Du fait du grand nombre de résidus acides, plusieurs modes d'interaction sont également envisageables pour la formation de complexes ternaires. Ce phénomène est donc très complexe et ne peut être interprété à la lumière des seules mesures de relaxivité.

Une forte relaxivité du complexe macromoléculaire ne peut être envisagé que dans le cas d'une interaction de type hydrophobe pour laquelle la sphère de coordination du complexe n'est pas affectée. La détermination du nombre de molécules d'eau dans la sphère de coordination de l'adduit GdL-BSA devrait permettre de discriminer les deux types d'interaction (hydrophobe ou coordination au centre métallique). Le nombre d'hydratation moyen \bar{q} d'une solution de complexe en présence de BSA est, de manière similaire à la relaxivité, donné par la relation suivante :

$$\bar{q} = \frac{[GdL]_{eq}}{C_{Gd}} q^{(f)} + \left(1 - \frac{[GdL]_{eq}}{C_{Gd}}\right) q^{(b)} \quad \text{Equation III. 14}$$

avec $q^{(f)}$ et $q^{(b)}$ les nombres d'hydratation du complexe GdL et de son adduit avec la BSA. Ainsi, la valeur de $q^{(b)}$ peut être déterminée à partir de la mesure de \bar{q} pour des quantités connues de BSA et de complexe.

Le temps de vie de luminescence de deux solutions de [Tb(dpaa)] 4 mM en présence de BSA 12 % m/v dans H₂O et dans D₂O ont été mesurés. Les valeurs obtenues ($\tau_{H_2O} = 10.04(3)$ et $\tau_{D_2O} = 1.63(2)$) sont en accord avec un nombre d'hydratation moyen $\bar{q} = 1.54 \pm 0.2$. Le nombre de molécules d'eau dans la première sphère de coordination du complexe libre a été déterminé au paragraphe II.2.2. Nous avons obtenu $q^{(f)} = 3.1 \pm 0.2$. La valeur obtenue en présence de BSA est inférieure à 2 et est compatible avec la présence de 0 ou de 1 molécule d'eau dans la sphère de coordination de l'adduit. Si nous considérons que tous les adduits ont des structures identiques, c'est-à-dire que tous les sites de liaisons sont équivalents, nous déduisons : $q^{(b)} = 0$ ou $q^{(b)} = 1$. Les deux hypothèses vont être envisagées et confrontées avec les mesures de relaxivité. Nous considérerons ici que la protéine possède n sites de liaisons équivalents, suffisamment distants pour que le complexe puisse se lier de manière indépendante. De cette façon, plusieurs complexes ($1 \leq p \leq n$ complexes) peuvent se lier sur p des n sites de la macromolécule pour former l'adduit (GdL)_p-BSA. Soit k la constante d'équilibre par site :

$$k = \frac{[(GdL)_p - BSA]}{[(GdL)_{p-1} - BSA][BSA]} \quad \text{Equation III. 15}$$

La constante successive de formation K_p et la constante globale de formation β_p sont obtenues par les relations suivantes :

$$K_p = \frac{n-p+1}{p}k \text{ et } \beta_p = K_1 K_2 \dots K_p \quad \text{Equation III. 16}$$

1^{er} cas : $q^{(b)} = 1$

Ce cas correspond au déplacement de deux molécules d'eau par les carboxylates des chaînes Asp ou Glu. Les valeurs $q^{(b)}$ et $q^{(f)}$ étant fixées, les équations III. 15 et III. 16 permettent d'obtenir les constantes de formation par site (k), pour des valeurs de n choisies. Les valeurs calculées pour un nombre de site (n) égal à 2, 4, 10 et 20 sont représentées dans le Tableau III. 22.

n	2	4	10	20
k (L mol ⁻¹)	1300	360	110	50

Tableau III. 22 : Interaction du complexe [Gd(dpaa)] avec la BSA : constante de formation par site k pour n sites de liaison équivalents.

Les constantes de formation par site diminuent lorsque le nombre de site augmente. Pour $n = 20$, la constante k est de l'ordre de 50, en accord avec la constante d'affinité du complexe [Gd(dpaa)(H₂O)₃] avec les oxyanions. Les constantes étant connues, l'équation III. 13 permet alors d'accéder, sans ajustement, aux valeurs de relaxivité de l'espèce liée $r_i^{(b)}$ ($i = 1,2$). Nous obtenons : $r_1^{(b)} = 13.2 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ et $r_2^{(b)} = 22.8 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ à 60 MHz et 25°C. Les courbes de titration théoriques calculées avec ces valeurs, pour les quatre valeurs $n = 2, 4, 10$ et 20 sont représentées Figure III. 62. L'accord avec l'expérience augmente significativement lorsque le nombre de site n augmente. La relaxivité totale de l'adduit macromoléculaire peut être considérée comme la somme d'une contribution de sphère externe (identique à celle du complexe libre) et d'une contribution de sphère interne. L'analyse de la contribution de sphère interne permet d'accéder aux paramètres dynamiques de l'adduit. Le temps de corrélation rotationnelle est fixé à la valeur donnée par la diffusion rotationnelle de la sphère de volume égal à celui de la BSA dont la densité est supposée égale à 1 g cm⁻³ : $\tau_R = 9.3 \text{ ns}$.^[95] Le temps de résidence τ_m est le seul paramètre ajustable. Une valeur égale à 0.8 μs est obtenue, intermédiaire entre celle reportée dans la littérature par P. Caravan et ses collaborateurs pour les adduits avec le complexe MS-325 et son analogue octodentate.^[92, 96]

2^{ième} cas : $q^{(b)} = 0$

Cette deuxième situation est également compatible avec un nombre de molécule d'eau moyen $\bar{q} = 1.54 \pm 0.2$. La relaxivité du complexe lié ne peut être interprétée uniquement par un mécanisme de sphère externe : les relaxivités mesurées en présence de BSA ($r_1 > 10 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$) sont beaucoup trop

importantes (voir Figure III. 62). Un mécanisme de deuxième sphère doit donc être envisagé.^[1, 2, 97] Nous avons vu en introduction que le mécanisme de seconde sphère pouvait être décrit, en première approximation, de manière analogue au mécanisme de sphère interne. Néanmoins, le temps de corrélation du mécanisme de seconde sphère τ'_c est bien plus court que τ_R . En considérant le temps de résidence des molécules d'eau τ'_m dans la seconde sphère de coordination inférieur à 100 ps,^[98] nous obtenons un rapport r_2/r_1 égal à 15%. Cette propriété est incompatible avec les données expérimentales pour lesquelles ce rapport est de l'ordre de 60%. Cette deuxième hypothèse est donc rejetée.

En conclusion de cette étude, les données de luminescence et de relaxivité ont pu être interprétées simultanément par la formation d'un adduit macromoléculaire entre le complexe $[\text{Gd}(\text{dpaa})(\text{H}_2\text{O})_3]$ et la BSA possédant une molécule d'eau dans sa sphère de coordination et dont la relaxivité ($r_1^{(b)} = 13.2 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$) est limitée par la vitesse d'échange de l'eau en première sphère. La relaxivité supérieure des complexes $[\text{Gd}(\text{dpaba})(\text{H}_2\text{O})_2]^-$ et $[\text{Gd}(\text{mpatcn})(\text{H}_2\text{O})_2]$ en présence de BSA pourrait soit indiquer la présence de deux molécules d'eau dans la sphère de coordination de l'adduit, soit une vitesse d'échange de l'eau en première sphère plus rapide, ou encore une meilleure affinité de la protéine pour le complexe. Aussi, nous avons vu au paragraphe précédent que la présence d'ion phosphate (tampon PBS) conduit au déplacement d'une molécule d'eau dans la sphère de coordination du complexe. Cependant, l'accroissement de la relaxivité du complexe $[\text{Gd}(\text{dpaa})(\text{H}_2\text{O})_3]$ est nettement supérieur en présence de tampon phosphate (PBS) que dans l'eau pure et est similaire à celui observé pour son analogue $[\text{Gd}(\text{dpaba})(\text{H}_2\text{O})]^-$. De ce fait, nous pourrions envisager que la coordination privilégiée du phosphate au centre métallique défavorise le déplacement des molécules d'eau par la protéine. Des études similaires à celles effectuées pour le complexe dans l'eau mais réalisées cette fois-ci en tampon phosphate devraient permettre de valider ces hypothèses. Nous pourrions également invoquer que la conformation de la protéine est mieux adaptée en présence d'ions phosphates.

II.3.6. Relaxivité dans le sérum

Lors de leur utilisation en pratique clinique, nous avons vu que les agents de contraste diffusent du sang vers le liquide interstitiel. Celui-ci a une composition proche du plasma sanguin : il est composé majoritairement d'ions, de sels inorganiques (Na^+ , Cl^- , K^+ , PO_4^{3-} , Mg^{2+} , Ca^{2+} , SO_4^{2-} ...), d'anions organiques et de protéines plasmatiques (dont 50 % d'albumine). Ainsi, la mesure de relaxivité dans le sérum permet une première évaluation du comportement du complexe en milieu physiologique. Du plasma bovin a été utilisé. Sa composition est proche de celle du plasma humain. Les principaux anions endogènes et leurs concentrations sont présentés dans le Tableau III. 23.

anion	lactate	carbonate	phosphate	citrate
[] (mM)	2.3	30	0.9	0.13

Tableau III. 23 : Teneur en anions dans le plasma humain.

Les temps de relaxation des protons de l'eau ont été mesurés à 45 MHz pour des solutions aqueuses de complexe et pour des solutions dans le sérum bovin (Invitrogen, origine Nouvelle-Zélande) de concentration connues. La contribution diamagnétique du sérum est égale à 0.8 s^{-1} . Les relaxivités associées sont récapitulées dans le Tableau III. 24.

	[Gd(dpaa)(H ₂ O) ₃]	[Gd(dpaba)(H ₂ O) ₂] ⁻	[Gd(mpatcn)(H ₂ O) ₂]
C _{GdL}	0.199	0.200	0.196
T ₁ (ms)	235.5	292.7	527
T ₂ (ms)	120.0	154.0	230.4
r _{1,sérum} (mM ⁻¹ s ⁻¹)	17.32	13.08	5.60
r _{1,H₂O} (mM ⁻¹ s ⁻¹)	9.39	6.94 ^a	5.77
Δr ₁ (mM ⁻¹ s ⁻¹)	9.94	8.14	1.87

^a Mesure à 35 MHz, 25°C, H₂O.

Tableau III. 24 : Relaxivité longitudinale des complexes [Gd(dpaa)(H₂O)₃], [Gd(dpaba)(H₂O)₂]⁻ et [Gd(mpatcn)(H₂O)₂] dans H₂O et dans le plasma à 45 MHz et 25°C. Δr₁ représente la variation de relaxivité.

Pour comparaison, les temps de relaxation longitudinale de ces complexes en présence et en absence de BSA sont rassemblés dans le Tableau III. 25.

	[Gd(dpaa)(H ₂ O) ₃] ^a	[Gd(dpaba)(H ₂ O) ₂] ^{-a}	[Gd(mpatcn)(H ₂ O) ₂] ^b
C _{GdL}	0.205	0.204	0.202
T ₁ (ms)	372(2)	285(5)	337(2)
r _{1,BSA} (mM ⁻¹ s ⁻¹)	11.2	15.2	12.69
r _{1,H₂O} (mM ⁻¹ s ⁻¹)	9.39	6.94 ^b	5.80
Δr ₁ (mM ⁻¹ s ⁻¹)	+ 1.8	+ 8.26	+ 6.89
Δr ₂ (mM ⁻¹ s ⁻¹)	+ 6.1	-	-

^a Mesures à 45 MHz, 25°C ; ^b Mesure à 35 MHz.

Tableau III. 25 : Relaxivité longitudinale des complexes [Gd(dpaa)(H₂O)₃], [Gd(dpaba)(H₂O)₂]⁻ et [Gd(mpatcn)(H₂O)₂] dans l'eau et une solution aqueuse de BSA 4.5% m/v (0.68 mM). Δr₁ représente la variation de relaxivité.

A la concentration utilisée (~0.2 mM), les anions endogènes sont présents dans les proportions stoechiométriques suivantes : n(citrate) < 1 équivalent, n(phosphate) ~4.5 équivalents, n(lactate) ~11.5 équivalents et n(carbonate) ~150 équivalents. A la vue des résultats précédents (§ II.3.4.), l'influence des anions citrate, phosphate et lactate sur la relaxivité est très faible à cette stoechiométrie. En revanche, l'effet du carbonate n'est pas négligeable : une extinction de la relaxivité associée au

déplacement des deux molécules d'eau de la sphère de coordination est attendue dans le cas des complexes $[\text{Gd}(\text{dpaba})(\text{H}_2\text{O})_2]^-$ et $[\text{Gd}(\text{mpatcn})(\text{H}_2\text{O})_2]$. En revanche, le complexe $[\text{Gd}(\text{dpaa})(\text{H}_2\text{O})_3]$ possède encore une molécule d'eau en sphère interne.

Les mesures de relaxivité dans le sérum vont à l'encontre de ce qui était attendu. Une augmentation de la relaxivité est observée pour les trois complexes ! La relaxivité du complexe $[\text{Gd}(\text{dpaba})(\text{H}_2\text{O})_2]^-$ dans le sérum est égale à celle en présence de BSA seule. Cette observation suggère que l'interaction avec la protéine sérique intervient au niveau du centre métallique et que son affinité est supérieure à celle du carbonate. La relaxivité du complexe $[\text{Gd}(\text{dpaa})(\text{H}_2\text{O})_3]$ dans le sérum est supérieure à celle en présence de BSA dans l'eau pure et est similaire à celle mesurée en présence de BSA dans le tampon phosphate PBS. Encore une fois, cette observation semble indiquer que les ions phosphate du sérum influencent la coordination de la BSA au centre métallique.

Quant à la relaxivité du complexe $[\text{Gd}(\text{mpatcn})(\text{H}_2\text{O})_2]$, elle est inférieure à la relaxivité en présence de BSA. Une compétition entre les oxoanions et les fonctions carboxylate des chaînes latérales des protéines est vraisemblablement à l'origine d'un tel résultat.

En conclusion, l'architecture des complexes de Gd(III) influence significativement leur relaxivité dans le sérum de bœuf. Le sérum est un milieu complexe dont les constituants (anions, protéines) peuvent influencer fortement la relaxivité de manière positive, ou négative. Des études distinctes des différentes contributions sont indispensables à la compréhension du système. Au vu de la complexité des phénomènes, elles n'en sont néanmoins pas suffisantes. Il pourrait être intéressant de déterminer le nombre de molécules d'eau dans la sphère de coordination des adduits en présence de BSA dans l'eau pure et dans le sérum. Toutefois, ces exemples suggèrent qu'il est possible d'accéder à des relaxivités élevées dans le sérum à partir de complexes dont le nombre d'hydratation est supérieur à un. Rappelons que celle du complexe $[\text{Gd}(\text{dpaa})(\text{H}_2\text{O})_3]$ est égale à $17.32 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ pour une valeur typique (45 MHz) de champ des imageurs actuels.

Bibliographie

- [1] E. Toth, L. Helm, A. Merbach, *The Chemistry of Contrast Agents in Medical Magnetic Resonance Imaging*, 1st ed., Wiley, Chichester, **2001**.
- [2] P. Caravan, J. J. Ellison, T. J. McMurry, R. B. Lauffer, *Chem. Soc. Rev.* **1999**, 99, 2293.
- [3] L. Vander Elst, M. Port, I. Raynal, C. Simonot, N. R. Muller, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2003**, 2495.
- [4] P. H. Fries, E. Belorizky, *J. Chem. Phys.* **2005**, 123.
- [5] P. H. Fries, C. Gateau, M. Mazzanti, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 15801.
- [6] A. Borel, H. Kang, C. Gateau, M. Mazzanti, R. B. Clarkson, R. L. Belford, *J. Phys. Chem. A* **2006**, 110, 12434.
- [7] D. Parker, R. S. Dickins, H. Puschmann, C. Crossland, J. A. K. Howard, *Chem. Rev.* **2002**, 102, 1977.
- [8] V. Jacques, J. F. Desreux, *Inorg. Chem.* **1994**, 33, 4048.
- [9] S. Aime, M. Botta, G. Ermondi, *Inorg. Chem.* **1992**, 31, 4291.
- [10] M. Woods, S. Aime, M. Botta, J. A. K. Howard, J. M. Moloney, M. Navet, D. Parker, M. Port, O. Rousseaux, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 9781.
- [11] L. Di Bari, G. Pintacuda, P. Salvadori, R. S. Dickins, D. Parker, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 9257.
- [12] S. Aime, M. Botta, G. Ermondi, E. Terreno, P. Anelli, F. Fedeli, F. Uggeri, *Inorg. Chem.* **1996**, 35, 2726.
- [13] C. Gateau, M. Mazzanti, J. Pécaut, F. Dunand, A. L. Helm, *Dalton Trans.* **2003**, 2428.
- [14] C. F. G. C. Geraldes, M. C. Alpoim, M. P. M. Marques, A. D. Sherry, M. Singh, *Inorg. Chem.* **1985**, 24, 3876.
- [15] S. Amin, C. Marks, L. M. Toomey, M. R. Churchill, J. R. Morrow, *Inorg. Chim. Acta* **1996**, 246, 99.
- [16] G. Kortüm, W. Vogel, K. Andussow, *Dissociation Constants of Organic Acids in Aqueous Solution*, Butterworths ed., **1961**.
- [17] L. C. Thompson, *Inorg. Chem.* **1964**, 3, 1319.
- [18] P. Gans, A. Sabatini, A. Vacca, *Talanta* **1996**, 43, 1739.
- [19] P. Gans, A. Sabatini, A. Vacca, Leeds, UK and Florence, Italy, **2000**.
- [20] R. Yang, L. J. Zompa, *Inorg. Chem.* **1976**, 15, 1499.
- [21] Y. Bretonnière, M. Mazzanti, F. A. Dunand, A. E. Merbach, J. Pécaut, *Inorg. Chem.* **2001**, 40, 6737.
- [22] R. D. Shannon, *Acta Cryst.* **1976**, A32, 751.
- [23] V. C. Pierre, M. Melchior, D. M. J. Doble, K. N. Raymond, *Inorg. Chem.* **2004**, 43, 8520.
- [24] R. Delgado, L. C. Siegfried, T. A. Kaden, *Helv. Chim. Acta* **1990**, 73, 140.

- [25] J. Kotek, P. Lebduskova, P. Hermann, L. V. Elst, R. V. Muller, C. Geraldès, T. Maschmeyer, I. Lukes, J. A. Peters, *Chem. Eur. J.* **2003**, *9*, 5899.
- [26] I. Mammadov, Tübingen **2006**.
- [27] E. Balogh, M. Mato-Iglesias, C. Platas-Iglesias, E. Toth, K. Djanashvili, J. A. Peters, A. de Blas, T. Rodriguez-Blas, *Inorg. Chem.* **2006**, *45*, 8719.
- [28] M. Botta, M. Ravera, A. Barge, M. Bottaro, D. Osella, *Dalton Trans.* **2003**, 1628.
- [29] A. Bianchi, L. Calabi, F. Corana, S. Fontana, P. Losi, A. Maiocchi, L. Paleari, B. Valtancoli, *Coord. Chem. Rev.* **2000**, *204*, 309.
- [30] N. Chatterton, C. Gateau, M. Mazzanti, J. Pécaut, A. Borel, L. Helm, A. E. Merbach, *Dalton Trans.* **2005**, 1129.
- [31] P. Caravan, S. J. Rettig, C. Orvig, *Inorg. Chem.* **1997**, *36*, 1306.
- [32] M. Meyer, V. Dahaoui-Gindrey, C. Lecomte, R. Guillard, *Coord. Chem. Rev.* **1998**, *1980*, 1313.
- [33] J. F. Desreux, E. Merciny, M. F. Loncin, *Inorg. Chem.* **1981**, *20*, 987.
- [34] S. Kasprzyk, R. G. Wilkins, *Inorg. Chem.* **1982**, *21*, 3349.
- [35] S. Laus, R. Ruloff, E. Toth, A. E. Merbach, *Chem. Eur. J.* **2003**, *9*, 3555.
- [36] A. Borel, S. Laus, A. Ozarowski, C. Gateau, A. Nonat, M. Mazzanti, L. Helm, *J. Phys. Chem. A* **2007**, *111*, 5399.
- [37] E. Belorizky, P. H. Fries, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2004**, *6*, 2341.
- [38] S. Rast, E. Belorizky, P. H. Fries, *J. Chem. Phys.* **2000**, *113*, 8724.
- [39] A. Abragam, in *The Principles of Nuclear Magnetism*, Oxford University Press ed., Oxford, **1961**.
- [40] H. D. Powell, O. M. N. Ni Dhubhghaill, D. Pubanz, L. Helm, Y. S. Lebedev, W. Schlaepfer, A. E. Merbach, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 9333.
- [41] S. Rast, P. H. Fries, E. Belorizky, *J. Chem. Phys.* **1999**, *96*, 1543.
- [42] S. Rast, P. H. Fries, E. Belorizky, *J. Chem. Phys.* **2000**, *113*, 8724.
- [43] J. Kowalewski, D. Kruk, G. Parigi, in *Advances in Inorganic Chemistry*, Vol. 57, Elsevier ed., **2005**, p. 41.
- [44] J. S. Troughton, M. T. Greenfield, J. M. Greenwood, S. Dumas, A. J. Wiethoff, J. Wang, M. Spiller, T. J. McMurry, P. Caravan, *Inorg. Chem.* **2004**, *43*, 6313.
- [45] P. H. Fries, E. Belorizky, *J. Chem. Phys.* **2007**, *126*, 204503.
- [46] A. Melchior, P. H. Fries, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 7424.
- [47] A. Nonat, C. Gateau, P. H. Fries, M. Mazzanti, *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 7133.
- [48] P. Lebduskova, P. Hermann, L. Helm, E. Toth, J. Kotek, K. Binnemans, J. Rudovsky, I. Lukes, A. E. Merbach, *Dalton Trans.* **2007**, 493.
- [49] M. Mato-Iglesias, C. Platas-Iglesias, K. Djanashvili, J. A. Peters, V. Toth, E. Balogh, R. N. Muller, L. V. Elst, A. de Blas, T. Rodriguez-Blas, *Chem. Commun.* **2005**, 4729.

- [50] D. H. Powell, O. M. N. Dhubhghail, D. Pubanz, L. Helm, Y. S. Lebedev, W. Schlaepfer, A. E. Merbach, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 9333.
- [51] F. A. Dunand, A. Borel, L. Helm, *Chem. Commun.* **2002**, *5*, 811.
- [52] S. M. Cohen, J. D. Xu, E. Radkov, K. N. Raymond, M. Botta, A. Barge, S. Aime, *Inorg. Chem.* **2000**, *39*, 5747.
- [53] L. Burai, V. Hietapelto, R. Kiraly, E. Toth, E. Brücher, *Magn. Reson. Med.* **1997**, *38*, 146.
- [54] R. S. Dickins, S. Aime, A. S. Batsanov, A. Beeby, M. Botta, J. Bruce, J. A. K. Howard, C. S. Love, D. Parker, R. D. Peacock, H. Puschmann, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 12697.
- [55] S. Aime, M. Botta, I. J. Bruce, V. Mainero, D. Parker, E. Terreno, *Chem. Commun.* **2001**, 115.
- [56] J. I. Bruce, R. S. Dickins, L. J. Govenlock, T. Gunnlaugsson, S. Lopinski, M. P. Lowe, D. Parker, R. D. Peacock, J. J. B. Perry, S. Aime, M. Botta, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 9674.
- [57] M. Botta, S. Aime, A. Barge, G. Bobba, R. S. Dickins, D. Parker, E. Terreno, *Chem. Eur. J.* **2003**, *9*, 2102.
- [58] D. Messeri, M. P. Lowe, D. Parker, M. Botta, *Chem. Commun.* **2001**, 2742.
- [59] J. Xu, F. S. J., D. W. Whisenhunt, Jr, K. N. Raymond, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 7245.
- [60] D. M. J. Doble, M. Botta, J. Wang, S. Aime, A. Barge, K. N. Raymond, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 10758.
- [61] M. K. Thompson, M. Botta, G. Nicolle, L. Helm, S. Aime, A. E. Merbach, K. N. Raymond, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 14274.
- [62] V. C. Pierre, M. Botta, S. Aime, K. N. Raymond, *Inorg. Chem.* **2006**, *45*, 8355.
- [63] S. Aime, M. Botta, L. Frullano, S. C. Crich, G. Giovenzana, R. Pagliarin, G. Palmisano, F. R. Sirtori, M. Sisti, *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 4017.
- [64] S. Aime, L. Calabi, C. Cavallotti, E. Gianolio, G. Giovenzana, P. Losi, A. Maiocchi, G. Palmisano, M. Sisti, *Inorg. Chem.* **2004**, *43*, 7588.
- [65] A. C. Chang, H. G. Brittain, J. Telsler, M. F. Tweedle, *Inorg. Chem.* **1990**, *29*, 4468.
- [66] J. L. Sessler, T. D. Mody, G. W. Hemmi, V. Lynch, *Inorg. Chem.* **1993**, *32*, 3175.
- [67] Z. P. Zheng, *Chem. Commun.* **2001**, 2521.
- [68] L. Natrajan, J. Pécaut, M. Mazzanti, C. LeBrun, *Inorg. Chem.* **2005**, *44*, 4756.
- [69] L. Natrajan, J. Pecaut, M. Mazzanti, *Dalton Trans.* **2006**, 1002.
- [70] A. S. W. Bligh, N. Choi, E. Evagourou, G., M. McPartlin, K. N. White, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **2001**, 3169.
- [71] E. Wong, P. Caravan, S. Liu, S. J. Rettig, C. Orvig, *Inorg. Chem.* **1996**, *35*, 715.
- [72] W. J. Evans, G. W. Rabe, J. W. Ziller, *Inorg. Chem.* **1994**, *33*, 3072.
- [73] A. J. Stemmler, J. W. Kampf, M. L. Kirk, B. H. Atasi, V. L. Pecoraro, *Inorg. Chem.* **1999**, *38*, 2807.
- [74] F. Benetollo, G. Bombieri, L. Calabi, S. Aime, M. Botta, *Inorg. Chem.* **2003**, *42*, 148.
- [75] L. Semenova, I., A. H. White, *Aust. J. Chem.* **1999**, *52*, 539.

- [76] G. R. Choppin, P. Thakur, J. N. Mathur, *Coord. Chem. Rev.* **2006**, *250*, 936.
- [77] G. Anderegg, F. Wenk, *Helv. Chim. Acta* **1967**, *50*, 2330.
- [78] L. C. Thompson, J. A. Loraas, *Inorg. Chem.* **1963**, *2*, 89.
- [79] J. N. Mathur, P. Thakur, C. J. Dodge, A. J. Francis, G. R. Choppin, *Inorg. Chem.* **2006**, *45*, 8026.
- [80] L. Vander Elst, A. Sessoye, S. Laurent, N. R. Muller, *Helv. Chim. Acta* **2005**, *88*, 574.
- [81] S. Aime, M. Botta, S. G. Crich, G. Giovenzana, R. Pagliarin, M. Sisti, E. Terreno, *Magn. Reson. Chem.* **1998**, *36*, S200.
- [82] E. J. Werner, S. Avedano, M. Botta, B. P. Hay, E. G. Moore, S. Aime, K. N. Raymond, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 1870.
- [83] R. B. Lauffer, *Magn. Reson. Med.* **1991**, *22*, 339.
- [84] S. Aime, M. Botta, M. Fasano, G. S. Crich, E. Terreno, *J. Biol. Inorg. Chem.* **1996**, *1*, 312.
- [85] P. Caravan, C. Comuzzi, W. Crooks, T. J. McMurry, G. R. Choppin, S. R. Woulfe, *Inorg. Chem.* **2001**, *40*, 2170.
- [86] M. H. Ou, C. H. Tu, S. C. Tsai, W. T. Lee, G. C. Liu, Y. M. Wang, *Inorg. Chem.* **2006**, *45*, 244.
- [87] S. Aime, E. Gianolio, E. Terreno, G. B. Giovenzana, R. Pagliarin, M. Sisti, G. Palmisano, M. Botta, M. P. Lowe, D. Parker, *J. Biol. Inorg. Chem.* **2000**, *5*, 488.
- [88] P. Caravan, *Chem. Soc. Rev.* **2006**, *35*, 512.
- [89] S. Aime, M. Botta, M. Fasano, E. Terreno, *Chem. Soc. Rev.* **1998**, *27*, 19.
- [90] J. Sandeaux, N. Kamenka, B. Brun, *Journal de Chimie Physique et de Physico-Chimie Biologique* **1978**, *75*, 895.
- [91] M. K. Thompson, D. M. J. Doble, L. S. Tso, S. Barra, M. Botta, S. Aime, K. N. Raymond, *Inorg. Chem.* **2004**, *43*, 8577.
- [92] P. Caravan, N. J. Cloutier, M. T. Greenfield, S. A. McDermid, S. U. Dunham, J. W. M. Bulte, J. C. Amedio, R. J. Looby, R. M. Supkowski, W. D. Horrocks, T. J. McMurry, R. B. Lauffer, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 3152.
- [93] S. Aime, M. Botta, G. S. Crich, G. B. Giovenzana, R. Pagliarin, G. Palmisano, M. Sisti, *Chem. Eur. J.* **2000**, *6*, 2609.
- [94] T. N. Parac-Vogt, K. Kimpe, S. Laurent, L. Vander Elst, C. Burtea, F. Chen, R. N. Muller, Y. C. Ni, A. Verbruggen, K. Binnemans, *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 3077.
- [95] I. Bertini, C. Luchinat, G. Parigi, *Solution NMR of Paramagnetic Molecules*, Elsevier, Amsterdam, **2001**.
- [96] P. Caravan, J. C. Amedio, S. U. Dunham, M. T. Greenfield, N. J. Cloutier, S. A. McDermid, M. Spiller, S. G. Zech, R. J. Looby, A. M. Raitsimring, T. J. McMurry, R. B. Lauffer, *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 5866.
- [97] S. Aime, M. Botta, E. Terreno, *Advances in Inorganic Chemistry* **2005**, *57*, 173.

- [98] A. Borel, L. Helm, A. E. Merbach, *Chem. Eur. J.* **2001**, *7*, 600.
- [99] E. Cole, R. C. B. Copley, J. A. K. Howard, D. Parker, G. Ferguson, J. F. Gallagher, B. Kaitner, A. Harrison, L. Royle, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **1994**, *11*, 1616.

IV – Sondes luminescentes

I. Complexes luminescents émettant dans le visible	197
I.1. Exemples de complexes avec les ions Eu(III) et Tb(III)	197
I.2. Etude d'une série de podates possédant le chromophore picolinate	200
II. Complexes luminescents émettant dans le proche infrarouge	211
II.1. Exemples de complexes avec les ions Yb(III), Nd(III) et Er(III)	211
II.2. Podates à pivot triazacyclononane possédant le chromophore 8-hydroxyquinoléine	216
II.2.1. Synthèse et étude des complexes avec le ligand H ₃ thqtcn	216
II.2.2. Synthèse et étude des complexes avec le ligand H ₆ thqtcn-SO ₃	226

I. Complexes luminescents émettant dans le visible

Outre leurs applications dans le domaine de l'imagerie optique et des fluoroimmunoessais,^[2, 3] les ions lanthanides émettant dans le visible sont également utilisés comme phosphores pour les écrans de télévision et les diodes luminescentes,^[4, 5] et dans les cristaux liquides^[6]. Les ions Eu(III) et Tb(III) sont les plus utilisés.

Au vu de leur faible coefficient d'absorption molaire, la luminescence des ions lanthanides est difficilement observable après excitation par une source lumineuse classique. Nous avons vu en introduction que le peuplement d'un état excité de l'ion est facilité par la présence d'un ligand organique agissant comme collecteur d'énergie (effet d'antenne). Deux critères sont indispensables à l'émission d'une luminescence intense : protection par rapport aux désactivations non-radiatives du milieu et transfert d'énergie du ligand au métal efficace. De plus, la stabilité thermodynamique et cinétique du complexe est à prendre en compte. De nombreux ligands ont été développés dans ce sens.

1.1. Exemples de complexes avec les ions Eu(III) et Tb(III)

Le transfert d'énergie du ligand vers le métal est d'autant plus efficace que le niveau de l'état triplet du ligand est en adéquation avec l'état excité du métal. Les principaux chromophores conduisant à une sensibilisation efficace de l'ion Eu(III) et/ou Tb(III) sont présentés ci-dessous. Nous avons vu en introduction que le cryptate de Lehn Eu(bpy•bpy•bpy) était utilisé commercialement. Toutefois, son rendement quantique dans l'eau pure est très faible (2%), dû à la présence de deux molécules d'eau dans la première sphère de coordination. Une stratégie communément utilisée pour les essais immunologiques consiste à déplacer les molécules d'eau coordonnées par des ions fluorures. Dans ce cas, le rendement quantique est alors de 10% pour le complexe de Eu(III).^[7] D'autres complexes possédant des unités bipyridine conduisent à une bonne sensibilisation de l'Eu(III). Les ligands associés sont représentés Figure IV. 1.

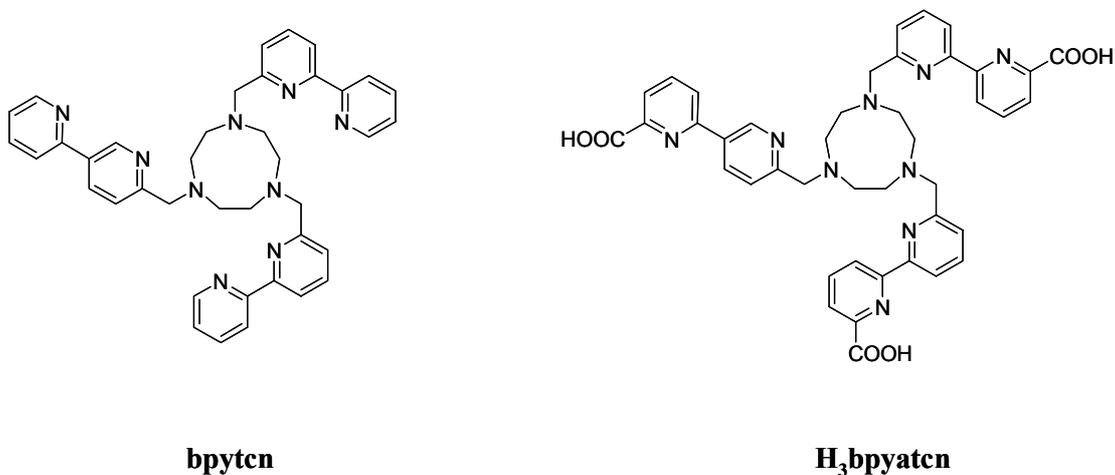


Figure IV. 1 : Ligands dérivés de l'unité bipyridine (bpy).

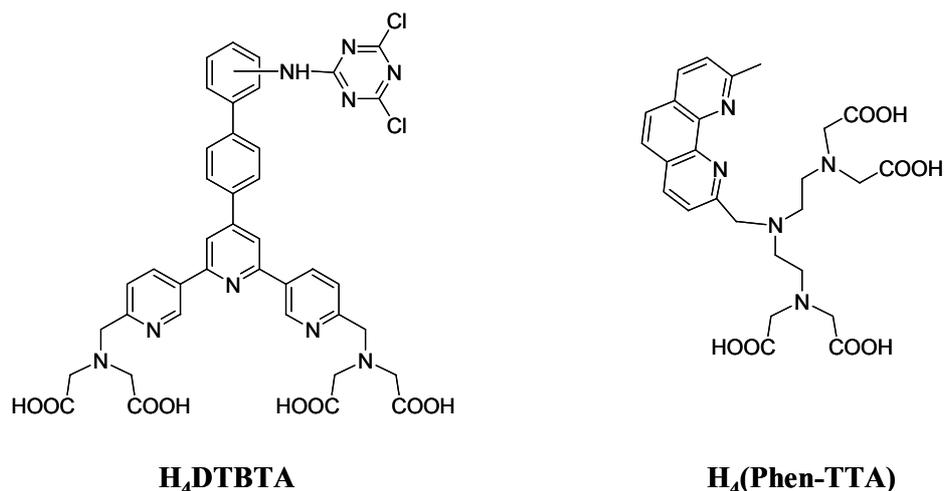


Figure IV. 3 : Exemples de ligands pour la sensibilisation des ions Eu(III) et Tb(III).

Ainsi, tous ces chromophores semblent adaptés à la sensibilisation de l'ion Eu(III). En revanche, les niveaux d'énergie semblent être trop proches des états excités du Tb(III).

Des meilleurs résultats pour le Tb(III) ont été obtenus avec l'unité picolinate. Notamment, les complexes $Cs_3[Eu(DPA)_3]$ et $Cs_3[Tb(DPA)_3]$ se sont révélés de très bonnes références pour la détermination des rendements quantiques en solution. Dans l'eau à pH = 7, leurs rendements quantiques sont respectivement de $12 \pm 1 \%$ et $26.5 \pm 2\%$.^[16] D'autres ligands possédant des unités picolinate ont été développés et ils sont présentés Figure IV. 4. Il est important de noter que, au sein même de cette série, de très grandes variations des rendements quantiques sont observées en fonction de l'architecture du complexe. Le tripode $H_3(Me-TREN-tpaa)$ a été étudié par C. Piguet et ses collaborateurs. Les rendements quantiques des complexes d'Eu(III) et de Tb(III) dans l'eau sont plus faibles que ceux des complexes avec le DPA^{2-} seul : 0.18% et de 0.89 % respectivement.^[17] En revanche, l'incorporation du picolinate dans une structure rigide térapodale conduit à des rendements quantiques élevés en solution. Les complexes avec le ligand $tpaen^{4-}$ ont été récemment étudiés au laboratoire. Leurs rendements quantiques sont élevés : 7 % pour le complexe $[Eu(tpaen)]$ et 45% pour le $[Tb(tpaen)]$, soit l'un des rendements quantiques les plus élevés de la littérature pour un complexe de Tb(III) en solution aqueuse.^[18, 19]

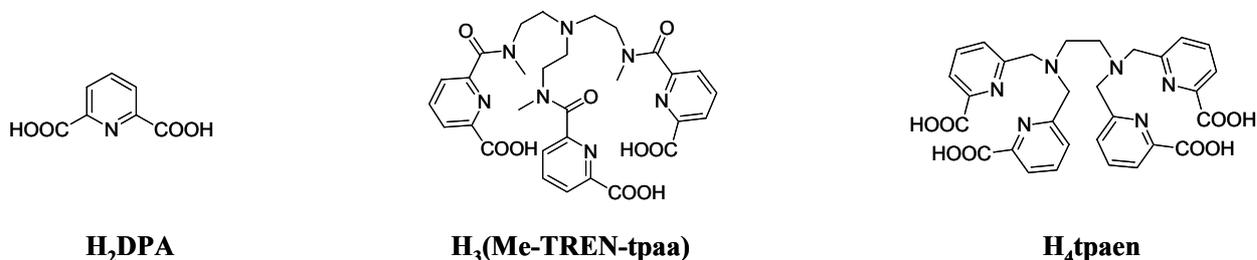


Figure IV. 4 : Ligands dérivés du picolinate.

Plusieurs facteurs peuvent être à l'origine de ces différences : la symétrie et la rigidité de la sphère de coordination, la position du niveau de l'état triplet du ligand et les désexcitations non-radiatives.

L'influence de l'état triplet a été étudiée par M. Latva et al sur une série de complexes dérivés de l'unité H₂DPA.^[20] Les auteurs ont montré que la position de l'état triplet du ligand peut être influencée par une substitution en position 3 du cycle aromatique. En effet, abaisser l'énergie de l'état triplet par la substitution par un groupement éthyne benzène (ligand H₂ebDPA, Figure IV. 5) conduit à une meilleure sensibilisation de l'Eu(III) ($\Phi = 38.4\%$ pour l'Eu(III) et 1.9% pour le Tb(III)). A l'inverse, le groupement triméthoxyphényle conduit à une amélioration de la luminescence du Tb(III) (48 % pour Tb(III) et 4.5 % pour Eu(III)).

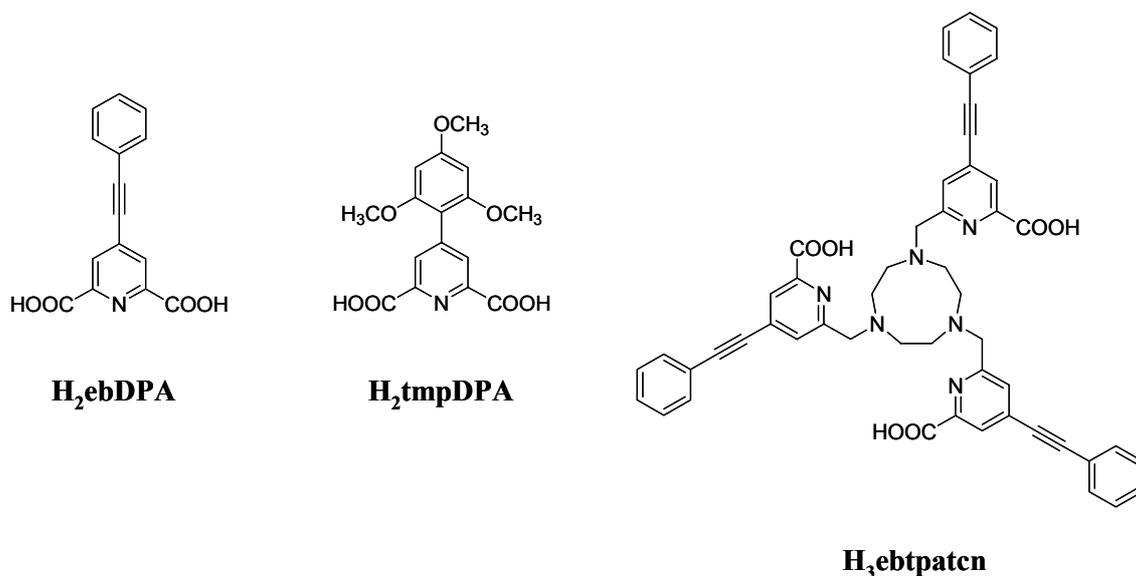


Figure IV. 5 : Ligands dérivés du picolinate fonctionnalisés.

Un rendement quantique élevé (22%) a également été reporté pour le complexe d'Eu(III) formé avec le ligand tripode ebtpatcn³⁻ à pivot 1,4,7-triazacyclononane (Figure IV. 5). Cependant, la luminescence du Tb(III) est faible (1.3%). De plus, aucune caractérisation structurale de ces complexes n'ont été réalisées que ce soit en solution ou à l'état solide.

Une meilleure compréhension de la relation entre l'architecture du complexe et ses propriétés de luminescence devrait aider à la mise au point de nouveaux systèmes très compétitifs. Pour cela il est important d'associer les études de luminescence aux études structurales.

1.2. Etude d'une série de podates possédant le chromophore picolinate

Une série de ligands dérivés du picolinate a été synthétisée et caractérisée au cours de cette thèse (Figure IV. 6). Chaque ligand conduit à une sensibilisation efficace de la luminescence des ions Eu(III) et Tb(III). Les spectres d'émission des complexes, après excitation sur le ligand, sont présentés ci-dessous (Figure IV. 7 et Figure IV. 8).

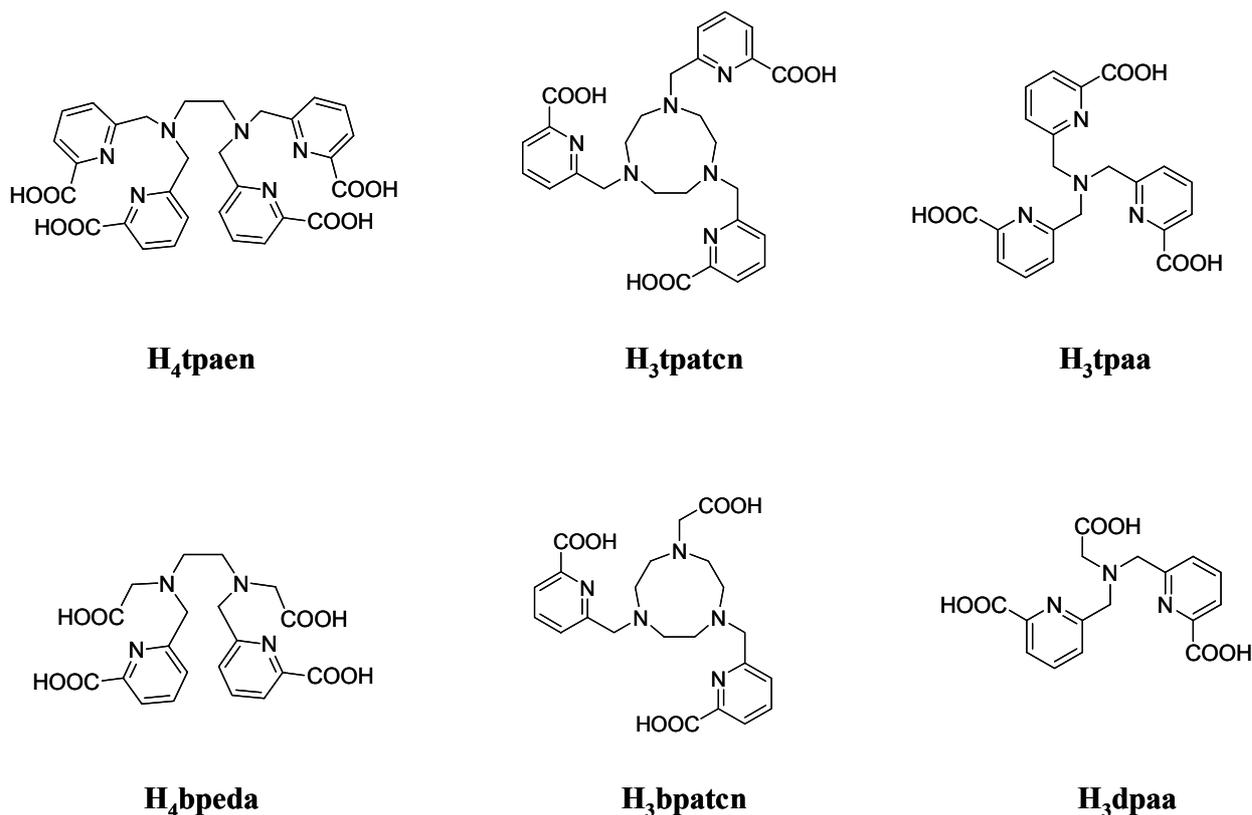


Figure IV. 6 : Série de ligands dérivés du picolinate dont la luminescence des complexes avec les ions Eu(III) et Tb(III) a été étudiée au laboratoire.

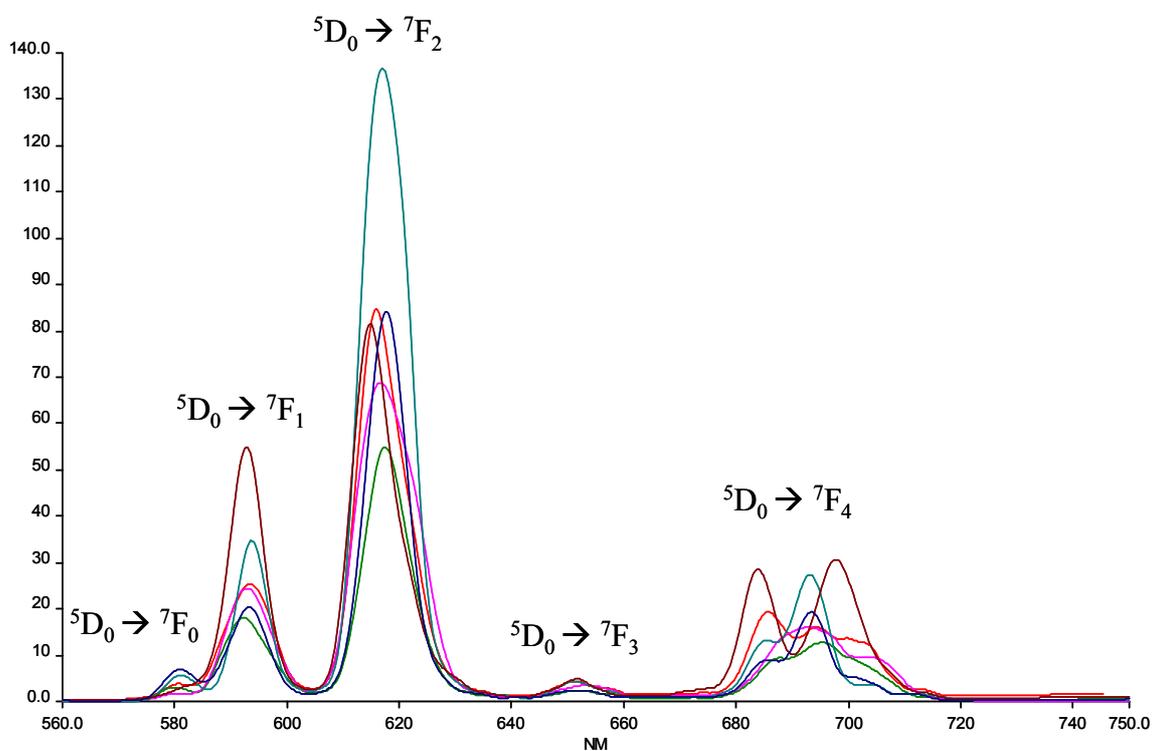


Figure IV. 7 : Spectres d'émission des complexes [Eu(L)] avec L = tpaen⁴⁻ (—), tpatcn³⁻ (—), bpeda⁴⁻ (—), bpatcn³⁻ (—), tpa³⁻ (—) et dpaa³⁻ (—) pour des solutions d'absorbance constante égale à 0.05.

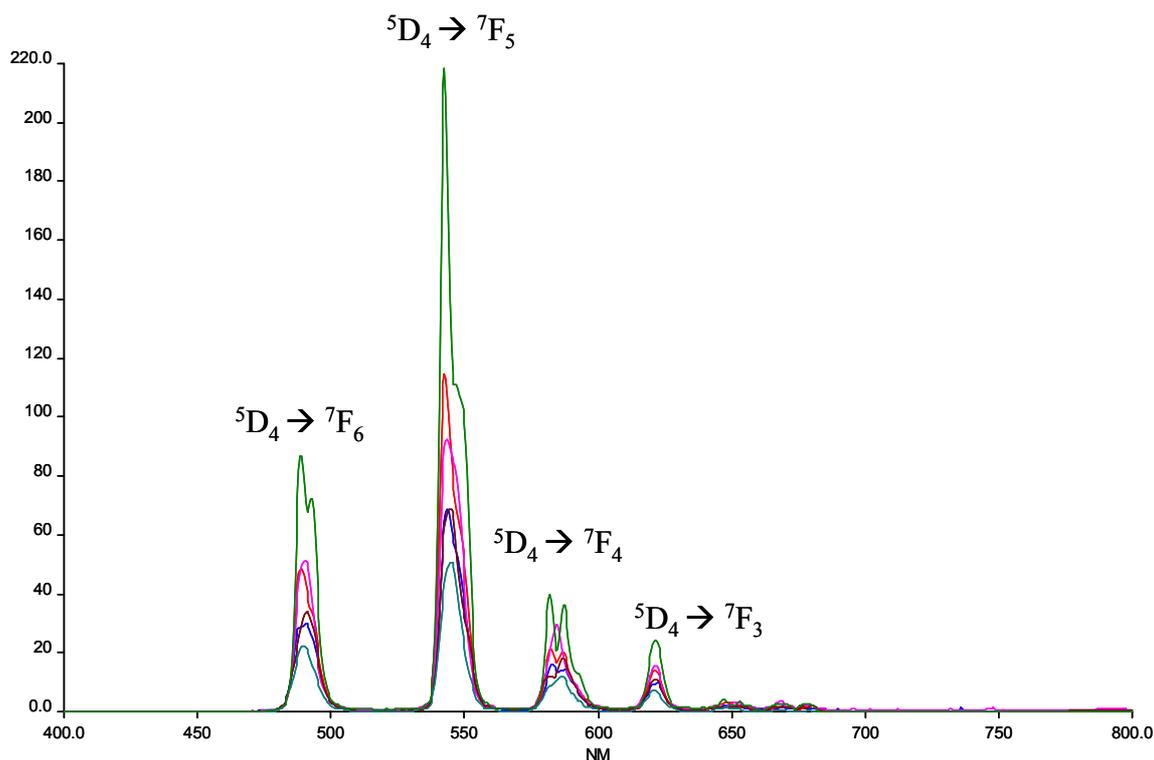
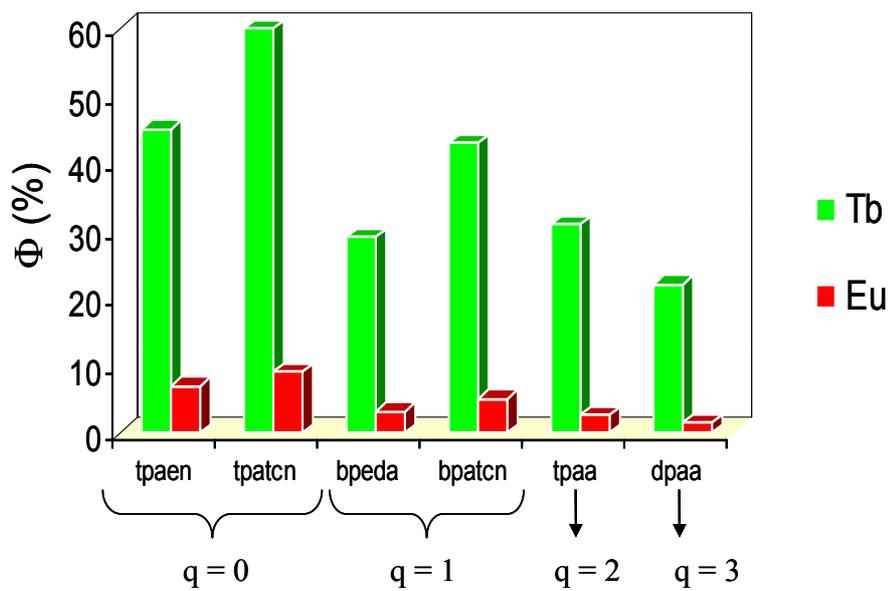


Figure IV. 8 : Spectres d'émission des complexes [Tb(L)] avec L = tpaen⁴⁻ (____), tpatcn³⁻ (____), bpeda⁴⁻ (____), bpatcn³⁻ (____), tpa³⁻ (____) et dpaa³⁻ (____) pour des solutions d'absorbance constante égale à 0.05.

Afin d'étudier l'influence des différents facteurs sur l'efficacité de la luminescence des complexes d'Eu(III) et de Tb(III), nous avons mesuré pour chacun d'entre eux leur rendement quantique, les temps de vie de luminescence (dans l'eau H₂O et D₂O) et le nombre de molécules d'eau en première sphère de coordination. Les valeurs des rendements quantiques dans l'eau des différents complexes sont représentées sur le Graphique IV. 1. Tous les résultats sont regroupés dans les Tableaux IV. 1 et IV. 2.

Le calcul du nombre de molécules d'eau en première sphère de coordination a été obtenu en utilisant l'équation de A. Beeby et al. Plus de précisions sur la méthode sont données en Annexe 1.



Graphique IV. 1 : Rendements quantiques des complexes dans le tampon Tris (pH = 7.4).

	[Tb(tpaen)] ⁻	[Tb(tpatcn)]	[Tb(bpeda)] ⁻	[Tb(bpatcn)]	[Tb(tpaa)]	[Tb(dpaa)]
λ_{ex} (nm)	274	274	273	273	270	272
$\tau_{\text{H}_2\text{O}}$ (ms)	3.0 ± 0.1	2.00 ± 0.02	1.59 ± 0.01	1.49 ± 0.02	1.08 ± 0.08	0.99 ± 0.01
$\tau_{\text{D}_2\text{O}}$ (ms)	3.75 ± 0.01	2.14 ± 0.02	2.27 ± 0.01	2.46 ± 0.07	2.2 ± 0.1	2.65 ± 0.03
q	0.0 ± 0.2	0.0 ± 0.2	0.8 ± 0.1	1.01 ± 0.2	2.02 ± 0.2	2.9 ± 0.2
$\Phi_{\text{H}_2\text{O}}$ (%)	45 ± 5	60 ± 6	29 ± 3	43 ± 5	31 ± 4	22 ± 4
$\Phi_{\text{D}_2\text{O}}$ (%)	-	-	-	48 ± 5	-	54 ± 8
$\Phi_{\text{tot}}^{\text{Tb}} / \Phi_{\text{tot}}^{\text{Eu}}$	6.4	6.7	9.1	8.6	11.9	14.7

Tableau IV. 1 : Temps de vie de luminescence, nombre d'hydratation et rendements quantiques absolus des complexes de Tb(III) en solution dans D₂O (tampon Tris pH = 7.4)

	[Eu(tpaen)] ⁻	[Eu(tpatcn)]	[Eu(bpeda)] ⁻	[Eu(bpatcn)]	[Eu(tpaa)]	[Eu(dpaa)]
λ_{ex} (nm)	274	274	273	273	270	272
$\tau_{\text{H}_2\text{O}}$ (ms)	1.70 ± 0.02	1.08 ± 0.01	0.56 ± 0.01	0.542 ± 0.004	0.438 ± 0.005	0.307 ± 0.002
$\tau_{\text{D}_2\text{O}}$ (ms)	3.30 ± 0.01	1.47 ± 0.01	2.04 ± 0.01	1.67 ± 0.04	2.32 ± 0.02	2.53 ± 0.02
q	0.04 ± 0.2	0.0 ± 0.2	1.3 ± 0.2	1.21 ± 0.2	1.93 ± 0.2	3.1 ± 0.2
$\Phi_{\text{H}_2\text{O}}$ (%)	7.0 ± 0.7	9.0 ± 0.9	3.2 ± 0.3	5.0 ± 0.5	2.6 ± 0.4	1.5 ± 0.3
$\Phi_{\text{D}_2\text{O}}$ (%)	-	-	-	12 ± 1	-	13 ± 2
τ_{R} (ms)	5.19	2.08	3.14	2.18	2.67	2.82
$\Phi_{\text{Eu}}^{\text{Eu}}$ (%)	32.8	51.8	17.9	27.1	16.4	10.9
η_{sens}	0.21	0.17	0.18	0.18	0.16	0.14

Tableau IV. 2 : Temps de vie de luminescence, nombre d'hydratation, rendements quantiques absolus des complexes d'Eu(III) en solution dans D₂O (tampon Tris pH = 7.4). Le temps de vie radiatif, le facteur de sensibilisation et le rendement quantique intrinsèque de l'Eu(III) ont été calculés à partir de l'étude des différentes transitions.

D'une manière générale, des rendements quantiques élevés ont été observés dans l'eau : de 22% à 60 % pour les complexes de Tb(III) et de 1.5 à 9 % pour les complexes d'Eu(III). Similairement aux complexes avec les ligands DPA²⁻ et Me-TREN-tpaa³⁻, les rendements quantiques des complexes sont meilleurs avec le Tb(III) qu'avec l'ion Eu(III), en accord avec une bonne adéquation des niveaux énergétiques du picolinate avec le premier niveau accepteur du Tb(III). Ceci est confirmé par une bonne correspondance entre le spectre d'absorption du ligand et le spectre d'excitation du complexe. Deux exemples sont donnés Figure IV. 9.

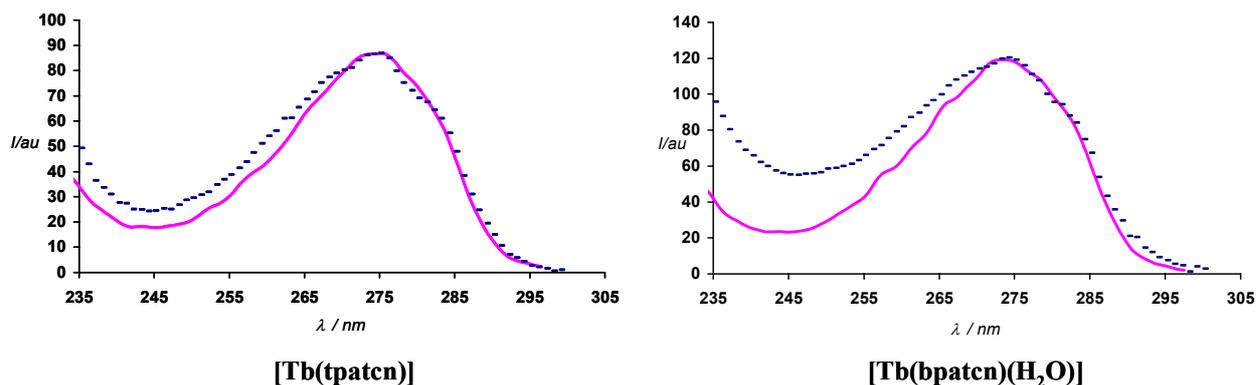
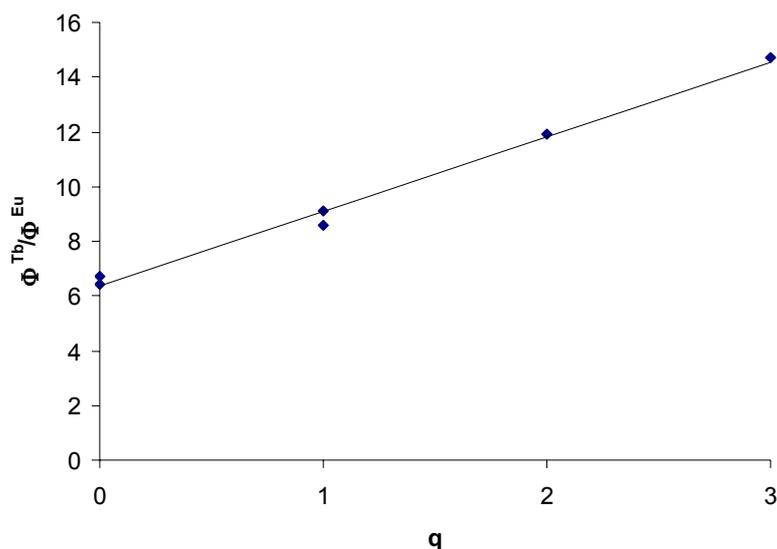


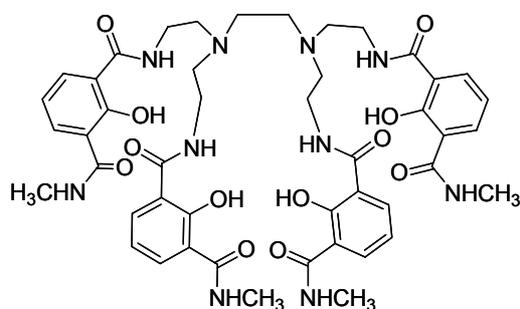
Figure IV. 9 : Spectre d'absorption du ligand L (----) et spectre d'excitation ($\lambda_{an} = 545 \text{ nm}$ —) du complexe [Tb(L)] : L = tpatcn³⁻, à gauche ; bpatcn³⁻ à droite.

Le rapport des rendements quantiques $\Phi_{tot}^{Tb} / \Phi_{tot}^{Eu}$ est indiqué dans le Tableau IV. 1. Ce rapport croît linéairement avec le nombre de molécules d'eau dans la première sphère de coordination du complexe (Graphique IV. 2). Comme les chromophores sont identiques pour tous les ligands de la série, nous pouvons supposer en première approximation que la position énergétique de l'état triplet du ligand est voisine pour tous les composés. Ainsi, la variation du rapport $\Phi_{tot}^{Tb} / \Phi_{tot}^{Eu}$ est liée aux désactivations non-radiatives de l'ion Eu(III) par les vibrations du complexe et des molécules d'eau. En effet, l'état excité de l'ion Eu(III) (5D_0) est plus bas en énergie que celui de l'ion Tb(III) (5D_4) et de ce fait, est plus sensible aux désactivations non-radiatives. Ceci est confirmé par l'analyse des temps de vie de luminescence des complexes d'Eu(III) dans l'eau : le temps de vie de luminescence est d'autant plus faible que le nombre d'hydratation du complexe est important (Tableau IV. 1). La mesure du rendement quantique des complexes dans le D₂O est également indicative des désexcitations non-radiatives. Il a été mesuré pour les complexes avec les ligands bpatcn³⁻ et dpaa³⁻ : une augmentation significative est observée par rapport au rendement mesuré dans une solution aqueuse. De plus, celle-ci est nettement plus importante pour les complexes d'Eu(III) que pour les complexes de Tb(III). Elle est également plus grande dans le cas des complexes tris-aqua [Ln(dpaa)(H₂O)₃] que pour les complexes [Ln(bpatcn)(H₂O)] ne possédant qu'une seule molécule d'eau en première sphère de coordination.



Graphique IV. 2 : Variation du rapport des rendements quantiques Φ^{Tb}/Φ^{Eu} en fonction du nombre de molécules d'eau en première sphère (q).

Les rendements quantiques des complexes dont la sphère de coordination est saturée, [Tb(tpaen)] (45 %) et [Tb(tpatcn)] (60%), sont particulièrement élevés en solution aqueuse. Le rendement quantique du [Tb(tpatcn)] est similaire à celui reporté récemment par S. Petoud et al avec des complexes dérivés de l'unité 2-hydroxyisophtalilmide, à ce jour les plus luminescents de la littérature. En effet, le complexe de Tb(III) avec le ligand tiPHTA⁸⁻ possède un rendement quantique de 59% (Figure IV. 10).^[19]



H₈tiPHTA

Figure IV. 10 : Structure du ligand H₈tiPHTA développé par S. Petoud et al.

Notons que le rendement quantique du complexe tripodal [Tb(tpatcn)] est 1.3 fois supérieur à celui de son analogue tétrapodal [Tb(tpaen)]. Des études RMN ¹H ont montré que chacun des deux complexes reste parfaitement coordonné en solution : les complexes avec le ligand tpaen⁴⁻ possèdent une symétrie C₂, ceux avec le ligand tpatcn³⁻ sont de symétrie C₃.^[18, 21] La différence de rendement quantique observée entre les deux systèmes est significative ; elle souligne l'influence de la symétrie et de la rigidité du complexe sur le rendement quantique absolu.

Un comportement similaire est observé avec les ligands octadentes : le rendement quantique du complexe $[Tb(bpacn)(H_2O)]$ (43%) est supérieur à celui du complexe $[Tb(bpeda)(H_2O)]$ (29%). Cependant, l'efficacité de luminescence est affectée par la présence d'une molécule d'eau dans leur sphère de coordination. Tous ces résultats semblent indiquer que les architectures tripodales, construites sur le pivot 1,4,7-triazacyclononane conduisent à une luminescence particulièrement intense.

Les complexes $[Tb(tpaa)(H_2O)_2]$ et $[Tb(dpaa)(H_2O)_3]$ possèdent également des rendements quantiques élevés (31 et 22 % respectivement) en dépit de la présence de deux et trois molécules d'eau dans leur sphère de coordination. Peu de complexes possédant à la fois des molécules d'eau dans leur sphère de coordination et un rendement quantique élevé ont été synthétisés à ce jour. Certains systèmes commencent à voir le jour. C. Picard et ses collaborateurs ont développé un ligand macrocyclique possédant une unité bipyridine (Figure IV. 11).^[22] Les rendements quantiques des complexes avec les ions Eu(III) et Tb(III) sont respectivement 10 et 21 %. Plus récemment, P. Atkinson et al ont obtenus des rendements quantiques intéressants avec une plateforme cyclène fonctionnalisée par une unité azaxanthone ($\Phi = 6.9$ % pour l'Eu(III) et 24 % pour le Tb(III)) (Figure IV. 11).^[23] Nos ligands conduisent à une luminescence du Tb(III) particulièrement intense en comparaison avec d'autres systèmes de la littérature et, a fortiori, par rapport au complexe de Tb(III) $Tb(bpy \cdot bpy \cdot bpy)$ avec le cryptate de Lehn (3%). De plus, même si le rendement quantique des complexes avec l'ion Eu(III) est plus faible, il reste supérieur (jusqu'à quatre fois) ou égal à celui du cryptate Eu($bpy \cdot bpy \cdot bpy$) commercial (2%).^[24]

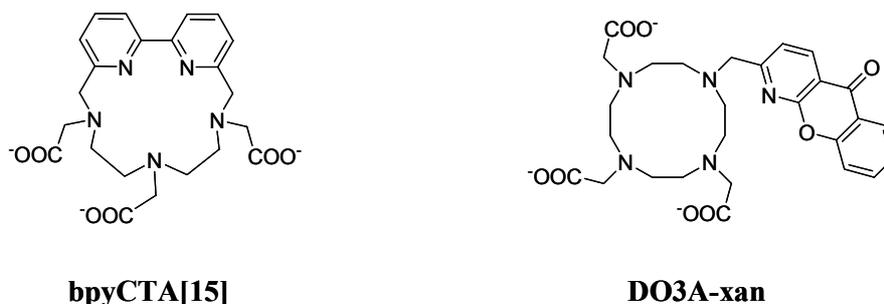


Figure IV. 11 : Ligands octadentes pour la sensibilisation des ions Eu(III) et Tb(III).

Nous avons vu en introduction que le rendement quantique d'un complexe est lié à trois contributions : i) l'efficacité du transfert inter-système η_{ISC} ; ii) l'efficacité du transfert d'énergie de l'état triplet du ligand vers l'état excité de l'ion Ln(III) η_{ET} et iii) le rendement intrinsèque d'émission Φ_{Ln}^{Ln} qui est caractéristique des désactivations non-radiatives du système. Le facteur de sensibilisation η_{sens} peut être défini comme le produit des efficacités du croisement inter-système et du transfert d'énergie (Equation IV.1).

$$\Phi_{tot}^{Ln} = \eta_{ISC} \times \eta_{ET} \times \Phi_{Ln}^{Ln} = \eta_{sens} \Phi_{Ln}^{Ln} \quad \text{Equation IV. 1}$$

Afin d'étudier plus en détail l'influence de l'architecture tripodale sur le rendement quantique, nous avons décomposé le rendement quantique absolu en ses deux principales composantes η_{sens} et Φ_{Ln}^{Ln} . Le rendement quantique intrinsèque Φ_{Ln}^{Ln} est défini par l' Equation IV.2, où τ_R et τ_{H_2O} sont respectivement le temps de vie radiatif et le temps de vie mesuré dans H₂O.

$$\Phi_{Ln}^{Ln} = \frac{\tau_{H_2O}}{\tau_R} \quad \text{Equation IV. 2}$$

Le temps de vie radiatif τ_R dépend principalement de la symétrie du complexe. Il peut être facilement déterminé dans le cas des complexes d'Eu(III). En effet, la transition ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_1$ étant purement magnétique dipolaire, elle ne dépend pas de l'environnement de l'ion Eu(III). Ainsi, sa probabilité d'émission spontanée est une constante indépendante du complexe : $A_{MD,0} = 14.65 \text{ s}^{-1}$. Elle est reliée à l'intensité relative de la bande d'émission correspondante I_{MD} et au temps de vie radiatif τ_R par la relation suivante :

$$\tau_R = \frac{1}{A_{MD,0} n^3} \left(\frac{I_{MD}}{I_{tot}} \right) \quad \text{Equation IV. 3}$$

avec n l'indice de réfraction du milieu et I_{MD}/I_{tot} le rapport de l'aire de la transition ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_1$ sur l'ensemble des transitions ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_J$ ($J=0 - 6$) du complexe d'Eu(III).

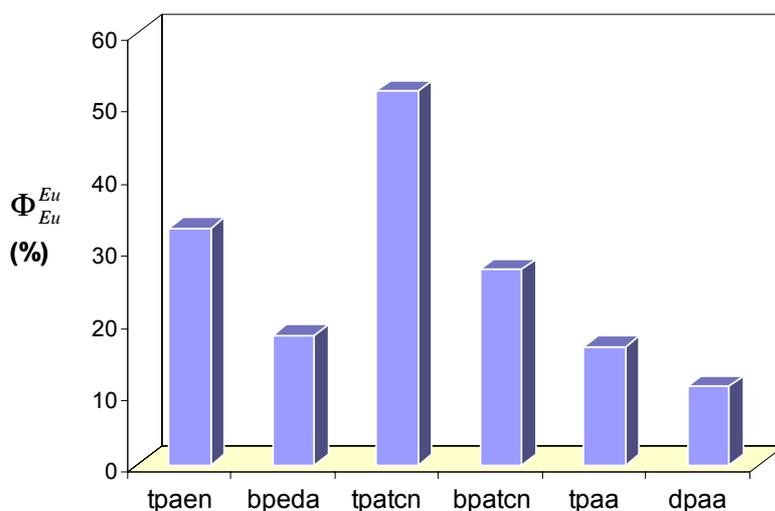
Compte tenu de la symétrie élevée des complexes étudiés, le résultat a été obtenu, dans une bonne approximation, en ne tenant compte que des quatre premières transitions $J = 1$ à 4. En effet, l'étude de la luminescence à l'état solide du complexe [Eu(tpatcn)] a permis de vérifier que l'intensité des transitions ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_5$ et ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_6$ du complexe [Eu(tpatcn)] est inférieure à 1% de l'intensité totale.

Les temps de vie radiatifs, les rendements quantiques intrinsèques et les facteurs de sensibilisation des complexes d'Eu(III) sont rassemblés dans le Tableau IV. 2.

Tableau IV. 2 Les facteurs de sensibilisation sont voisins pour tous les complexes ($0.14 < \eta_{sens} < 0.21$). Cette valeur est inférieure à celle déterminée pour le complexe [Eu(DPA)₃]³⁻ ($\eta_{sens} = 0.31$) en considérant $\tau_R = 4.3 \text{ ms}$,^[25] $\tau_{H_2O} = 1.65 \text{ ms}$ et $\Phi = 12 \%$.^[20] Elle est probablement limitée par l'efficacité du transfert d'énergie du donneur vers l'accepteur. En effet, la luminescence intense observée avec l'ion Tb(III) laisse supposer un état triplet relativement haut en énergie et de ce fait, moins adapté à la sensibilisation de l'Eu(III). Ceci est en accord avec les rapports $\Phi_{tot}^{Tb} / \Phi_{tot}^{Eu}$ élevés

observés tout au long de la série. La séparation des contributions η_{ET} et η_{ISC} est possible mais nécessiterait tout d'abord de déterminer les niveaux énergétiques de des états triplets et singulets des ligands.

Le rendement quantique intrinsèque est d'autant plus faible que les processus non-radiatifs sont efficaces. Il est relativement faible pour les complexes avec les ligands $dpaa^{3-}$ et $tpaa^{3-}$ possédant deux et trois molécules d'eau dans leur sphère de coordination (16.4 et 10.9 % respectivement). Il augmente progressivement pour les complexes avec les ligands octadentes (17.9 et 27.1 %) puis pour les complexes nona-coordonnés (32.8 et 51.8 %) (Graphique IV. 3).



Graphique IV. 3 : Rendements quantiques intrinsèques Φ_{Eu}^{Eu} calculés pour les complexes d'Eu(III) de la série.

Ce calcul met en évidence l'origine du rendement quantique élevé pour les ligands dérivés du 1,4,7-triazacyclononane : leurs rendements quantiques intrinsèques sont 1.5 fois supérieurs à ceux de leurs analogues tétrapodaux ! Ainsi, il semblerait les ligands $H_3tpatcn$ et $H_3bpatcn$ dérivés du 1,4,7-triazacyclononane conduisent à la formation de complexes dont la rigidité et la symétrie sont particulièrement bien adaptées à l'encapsulation du métal et à sa protection par rapport aux désactivations du milieu extérieur.

Afin de vérifier si cette observation est vérifiée pour tous les ligands dérivés du 1,4,7-triazacyclononane, il serait judicieux de greffer des chromophores mieux adaptés à la sensibilisation de l'ion Eu(III) et de vérifier si le rendement quantique augmente. Nous pouvons déjà noter que le rendement quantique du complexe $[Eu(ebtpatcn)]$ est de 22% (Figure IV. 5) au lieu de 9% pour le complexe $[Eu(tpatcn)]$.

Toutefois, le principal inconvénient de ces complexes réside dans leur longueur d'onde d'excitation. Le maximum d'absorption de l'unité picolinate se situe dans la zone UV, aux alentours de 274 nm et rend les complexes dérivés du picolinate peu compatibles pour leur utilisation pour la microscopie optique par fluorescence. D'une part, les sources lumineuses classiquement utilisées (lasers Ar, He-Ne, Kr-Ar, lumière blanche ou diodes électroluminescentes) ne permettent pas à ce jour une excitation à des longueurs d'ondes inférieures à 300 nm. D'autre part, une forte énergie d'excitation peut engendrer des dégradations photoinduites du milieu biologique. En particulier, nous pouvons citer les processus de dégradations de l'ADN par les rayonnements UV.^[26, 27] En effet, l'absorption des bases de l'ADN est maximale à 260 nm, et donc les dégradations plus probables (Figure IV. 12).

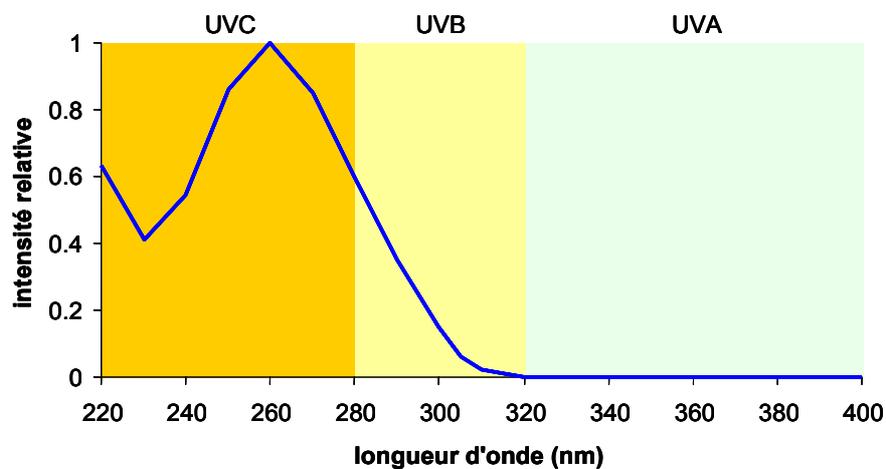


Figure IV. 12 : Spectre d'absorption de l'ADN.

Ainsi, à terme, nous devrions envisager l'utilisation de chromophores pouvant être excités à des longueurs d'onde visibles (dont la longueur d'onde d'absorption est au moins supérieure à 320 nm).

II. Complexes luminescents émettant dans le proche infrarouge

Les ions lanthanides émettant dans le proche infrarouge sont utilisés depuis une trentaine d'année pour le développement de systèmes optiques ou électro-optiques, à savoir des lasers, des amplificateurs ou des diodes électroluminescentes. Les matrices ou les polymères dopés au Nd(III) et à l'Er(III), sont largement utilisés en tant que lasers, fibres optiques ou amplificateurs car leurs longueurs d'onde d'émission (1060 nm et 1540 nm respectivement) sont compatibles avec celles utilisées dans le domaine des télécommunications.^[29] Les complexes de Nd(III) et Yb(III) sont également utilisés pour la mise au point de diodes électroluminescentes ou OLEDs (« organic light-emitting diodes »).^[30]

Enfin, nous avons vu en introduction que les complexes émettant dans l'infrarouge sont particulièrement intéressants pour une application dans le domaine biomédical car ils permettent d'explorer des tissus beaucoup plus profonds (20 cm au lieu de quelques millimètres), dû aux faibles coefficients d'absorption de l'eau et des milieux biologiques aux longueurs d'onde élevées ($920 > \lambda > 720$ nm).^[28] De ce fait, nous avons également développé des complexes possédant la même architecture 1,4,7-triazacyclononane mais dont la longueur d'onde d'absorption est déplacée à 370 nm et l'émission se situe dans le proche infrarouge.

II.1. Exemples de complexes avec les ions Yb(III), Nd(III) et Er(III)

Les ions Yb(III), Nd(III) et Er(III) sont les plus luminescents. Dans une moindre mesure, les ions Pr(III), Sm(III), Dy(III), Ho(III) et Tm(III) donnent également lieu à des transitions émettant dans l'infrarouge.

La photophysique de ces ions est similaire à celle du Tb(III) et de l'Eu(III) (voir chapitre I.). Cependant, comme la différence d'énergie entre l'état excité luminescent et l'état fondamental est plus faible ($10\,400\text{ cm}^{-1}$ pour l'ion Yb(III), $5\,900\text{ cm}^{-1}$ pour l'ion Er(III) et $4\,400\text{ cm}^{-1}$ pour l'ion Nd(III) au lieu de $14\,800\text{ cm}^{-1}$ et $12\,300\text{ cm}^{-1}$ pour les ions Tb(III) et Eu(III) respectivement), les processus de désactivation non-radiatifs liés aux oscillateurs O-H du solvant et aux vibrations du ligand (O-H, N-H, C-H) sont favorisés. Cela se traduit par un rendement quantique intrinsèque faible. Le contrôle de la sphère de coordination des complexes est donc primordial afin de minimiser ces désactivations.

De plus, une sensibilisation efficace de ces ions n'est possible que si l'état triplet du ligand est déplacé vers les faibles énergies ($\lambda_{\text{ex}} > 300$ nm). Des chromophores différents de ceux couramment utilisés pour la luminescence dans le visible seront donc utilisés.

Enfin, le temps de vie de luminescence est plus court (ns à μ s), limitant l'efficacité des complexes à émission dans l'infrarouge pour la luminescence en temps résolu. Une première méthode pour augmenter leur temps de vie est la mise au point de complexes hétérobimétalliques d-f. La deuxième approche consiste à protéger le métal des désexcitations non-radiatives du solvant par encapsulation dans un ligand adapté. Notons que plusieurs méthodes ont été mises au point pour s'affranchir des vibrations de haute énergie dans la structure du ligand. Entre autres, nous pouvons citer la fluorination^[31] et la deutération^[32] des chaînes alkyles.

De nombreux chromophores ont été utilisés pour sensibiliser la luminescence des ions lanthanides(III) dans l'infrarouge (Figure IV. 13). La plupart sont soit incorporés dans la formation d'un complexe ternaire, soit greffés à une plateforme de type cyclène,^[39-41] terphényl^[42, 43] ou calixarène.^[44] Certains ligands podants possèdent aussi des propriétés très intéressantes.^[1, 45, 46] Les meilleurs chromophores semblent être les β -dicétones,^[47-49] la tropolone,^[50] la 1,10-phénantroline^[51, 52] et les dérivés des quinoléines.^[53, 54] Quelques colorants sensibilisent également les ions Yb(III), Nd(III) et Er(III) comme par exemple la fluorescéine.^[55-57]

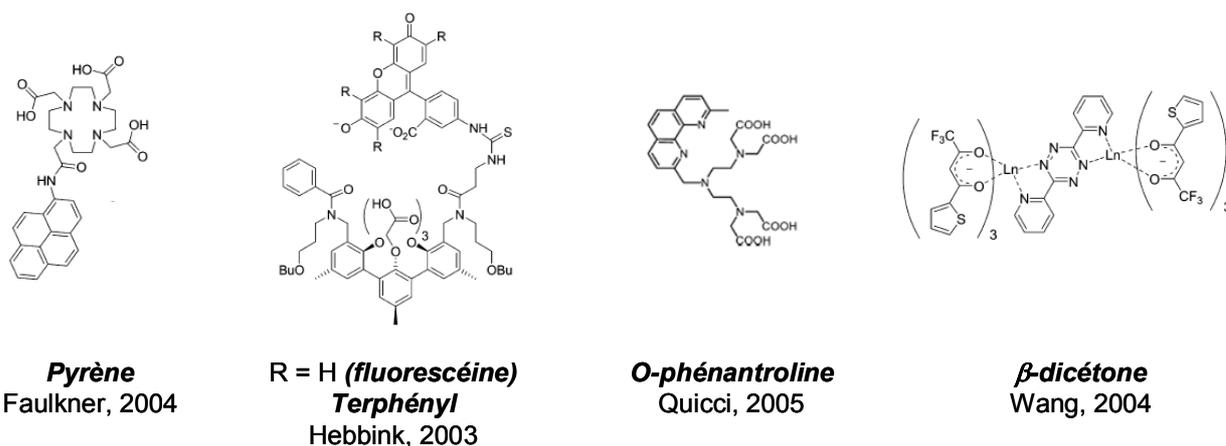


Figure IV. 13 : Exemples de ligands utilisés pour sensibiliser la luminescence des ions Yb(III), Nd(III) et Er(III).

Cependant, peu de complexes très luminescents sont solubles dans l'eau et les rendements quantiques en solution aqueuse sont faibles. Ils sont fortement influencés par les vibrations du solvant et par celles des liaisons du ligand. Les ligands donnant lieu à la formation des complexes les plus luminescents dans l'eau sont présentés Figure IV. 14 ainsi que les rendements quantiques associés.

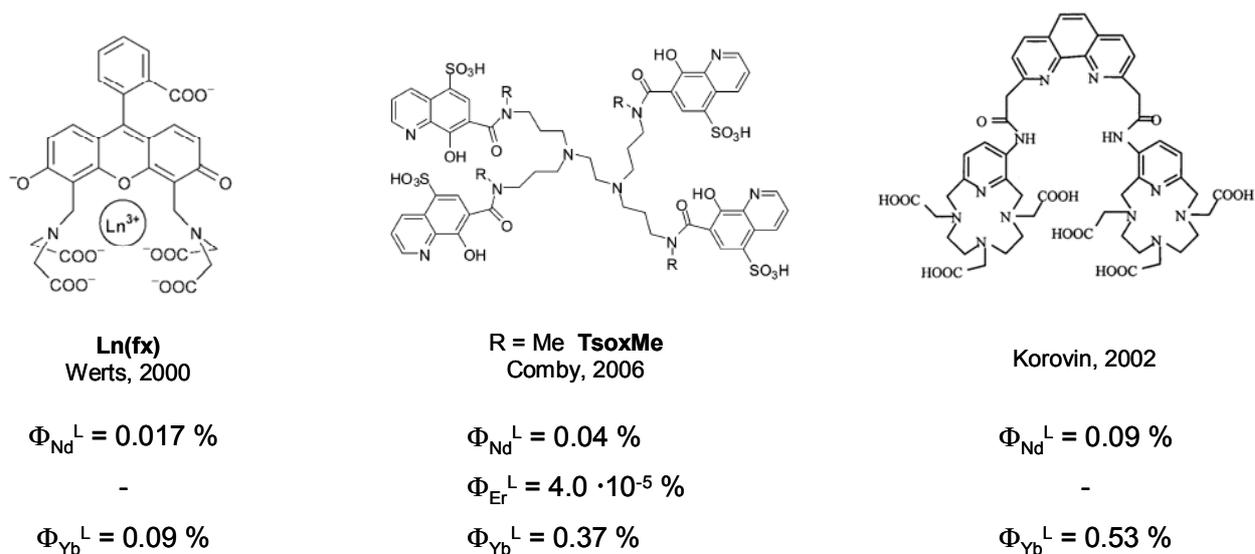


Figure IV. 14 : Sélection des meilleurs rendements quantiques en solution aqueuse pour les complexes Yb(III), Nd(III) et Er(III).

Le fluorexon fx correspond à une fluorescéine directement fonctionnalisée par des groupements carboxylate. Contrairement aux autres dérivés de la fluorescéine pour lesquels le transfert d'énergie intramoléculaire est limité par la distance chromophore-métal, le centre métallique est ici proche du chromophore et le transfert rapide. Une sensibilisation efficace du métal est donc observée ($\Phi_{tot}^{Yb} = 0.09 \%$). Cependant, les complexes restent sensibles aux désexcitations non radiatives du solvant et une différence importante est observée dans D_2O ($\Phi_{tot}^{Yb} = 0.45 \%$).^[57]

L'équipe de Y. V. Korovin a mis au point un ligand macrocyclique possédant deux macrocycles pyridiniques reliés par une unité phénanthroline. Ce ligand forme des complexes 2 : 1 d'une bonne stabilité thermodynamique ($\log K_{Ln2L} = 17.2$) et cinétique avec les lanthanides. Le macrocycle protège efficacement les ions métalliques des vibrations extérieures. Les rendements quantiques des complexes de Nd(III) et d'Yb(III) sont les plus élevés à ce jour. De plus, une faible augmentation est observée dans l'eau lourde ($\Phi_{tot}^{Yb} = 0.86\%$ et $\Phi_{tot}^{Nd} = 0.17\%$).^[52]

Le ligand tétrapode TsoxMe possédant quatre unités 8-hydroxyquinoléine forme des complexes 1 : 1 très lumineux dans l'infrarouge en solution aqueuse. En effet, les rendements quantiques dans l'eau sont quatre fois supérieurs à ceux des complexes de fluorexon. D'après ces résultats il semblerait que l'unité 8-hydroxyquinoléine soit le chromophore de choix pour la sensibilisation des ions Nd(III), Yb(III) et Er(III) (Figure IV. 15).

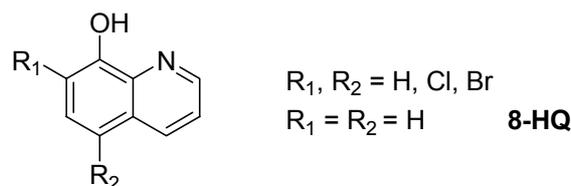


Figure IV. 15 : Structure du ligand 8-HQ et de ses dérivés.

Tout d'abord, son état triplet situé à basse énergie autour de $17\,100\text{ cm}^{-1}$ (500-600 nm) est plus adapté à la sensibilisation des ions émettant dans l'infrarouge. De plus, cette unité présente l'avantage non négligeable de pouvoir être excitée à des longueurs d'onde peu dommageables pour le milieu biologique ($\lambda_{\text{ex}} = 340\text{-}450\text{ nm}$). Les premières applications de ce chromophore pour l'élaboration de dispositifs électroluminescents ont été reportées en 1987 par C. W. Tang et S. A. Van Slyke lorsque les auteurs ont utilisé le complexe $[\text{Al}(\text{8-Q})_3]$ pour l'élaboration de la première diode organique électroluminescente.^[58] Depuis, les complexes de Ln(III) avec le ligand 8-Q et ses dérivés ont largement été utilisés.^[59-63] Cependant, ce n'est qu'en 2004 que leur chimie de coordination n'a réellement été étudiée. En effet, R. Van Deun et ses collaborateurs ont mis en évidence l'existence de complexes de stœchiométries différentes en fonction des conditions expérimentales. Principalement trois types de structures ont été isolées (Figure IV. 16) :^[53]

- le complexe 1 : 3 $[\text{Ln}(\text{8-Q})_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}]_2$ (Tris) pour lequel l'ion Ln(III) est lié à trois ligands et présente un nombre de molécules d'eau variables selon le Ln(III), qui forment des liaisons hydrogène avec une autre unité Tris ;
- le complexe 1 : 4 $[\text{NaLn}(\text{8-Q})_4]$ ou $[(\text{NH}_4)\text{Ln}(\text{8-Q})_4]$ (Tetrakis) pour lequel l'ion Ln(III) est coordonné par quatre ligands ;
- et le complexe 3 : 8 $[\text{Ln}_3(\text{8-Q})_8(\text{CH}_3\text{COO})]$ (Trimère). Dans cette structure, les deux ions Ln(III) périphériques sont liés à quatre ligands. Un troisième Ln(III) central est coordonné par les atomes d'oxygène des hydroxyquinoléine et par un ion acétate.

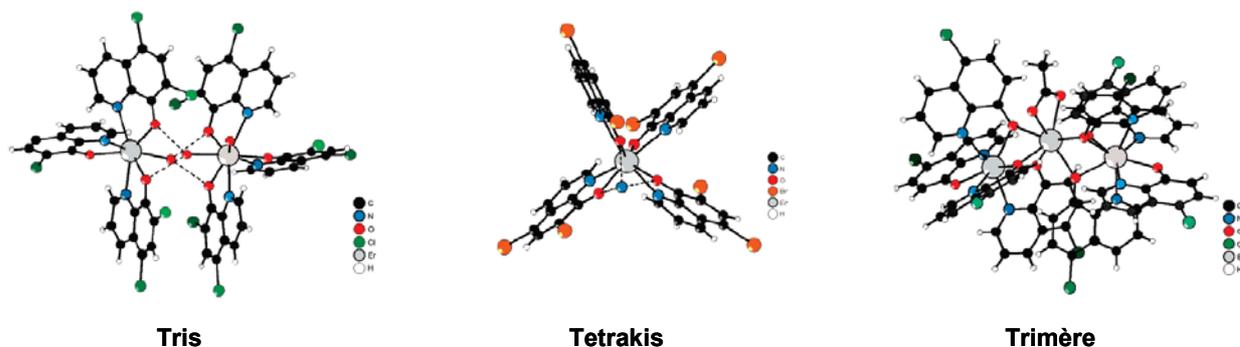


Figure IV. 16 : Trois types de structures principalement majoritairement pour les complexes de Ln(III) avec le ligand 8-HQ. D'après la référence^[53].

Dans la plupart des cas, des mélanges des trois espèces ont été obtenus ce qui rend la corrélation entre les mesures de luminescence et la structure du complexe difficile. Il faut noter qu'un quatrième type de structure, $[Ln_3(8-Q)_9]$ de stœchiométrie 1 : 3, a été obtenu plus récemment par les équipes de G. P. Deacon ($Ln = Ho$)^[64] et G. Bongiovanni ($Ln = Er$)^[65] En vu d'obtenir des complexes de stœchiométrie 1 : 3, M. Albrecht et al ont étendu la coordination de l'unité 8-hydroxyquinoléine par l'incorporation d'une fonction amide en position 2. Le ligand est présenté Figure IV. 17.

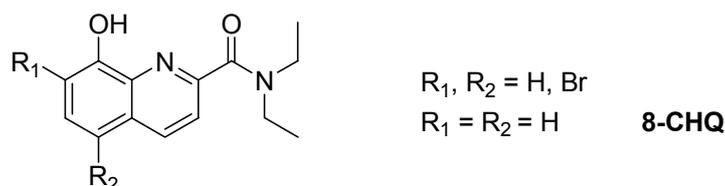


Figure IV. 17 : Structure du ligand 8-CHQ et de ces dérivés.

De bons rendements quantiques ont été mesurés à l'état solide pour les complexes avec les ions Yb(III), Nd(III) et Er(III). Toutefois, le complexe d'Er(III) avec le ligand dibromé ($R_1, R_2 = Br$) n'a pu être obtenu de manière pure indiquant que la synthèse n'est pas facilement reproductible.^[54]

Au vu des problèmes rencontrés pour contrôler la stœchiométrie des complexes ternaires, l'équipe de J.C. Bünzli a envisagé l'incorporation de l'unité 8-hydroxyquinoléine dans un ligand podant. Deux types de ligands ont été synthétisés : des tétrapodes (Tox, Tsox, TsoxMe)^[1, 66] et un tripode. Ils sont représentés Figure IV. 18.^[46]

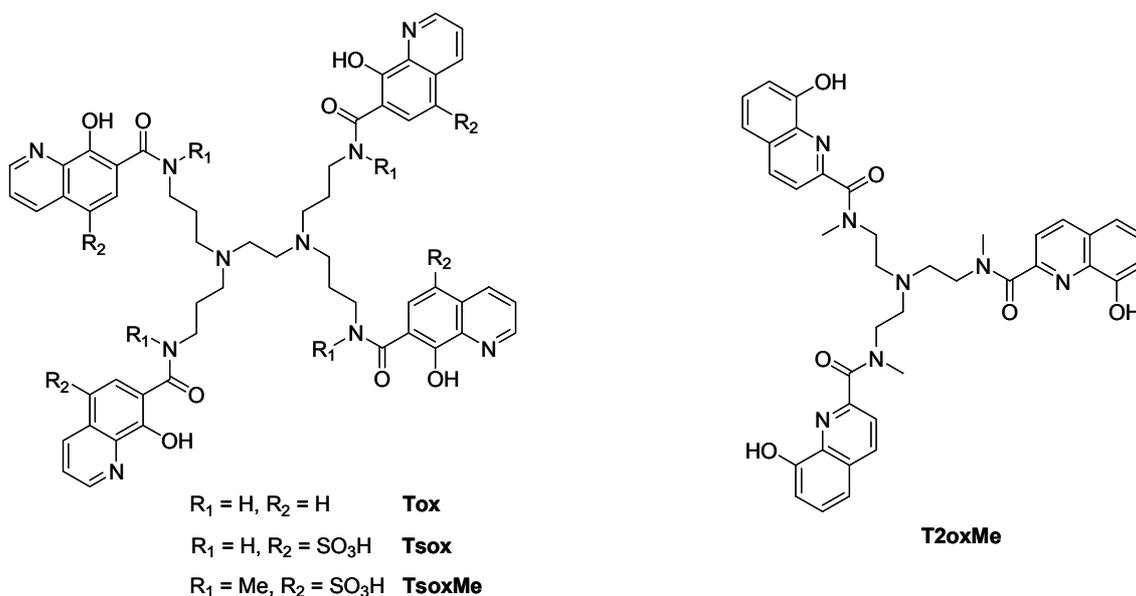


Figure IV. 18 : Exemples de podants dérivés de l'unité 8-hydroxyquinoléine.

Un avantage considérable de ce type d'architecture réside dans le fait qu'elle permet non seulement de contrôler la stœchiométrie du complexe formé mais également une amélioration non négligeable de la stabilité thermodynamique ($pEu = 14.9$ avec le ligand TsoxMe au lieu de $pEu = 8.1$ pour $[Eu(8-Q)_3]$).

Les complexes avec le ligand TsoxMe possèdent de bons rendements quantiques en solution aqueuse. Toutefois, la structure d'aucun de ces complexes n'a été étudiée ni à l'état solide ni en solution, ce qui limite l'étude de l'influence de la structure sur le rendement quantique. De plus, nous avons vu que la présence des fonctions amides du ligand donne lieu à une augmentation de la flexibilité du système. Nous venons de montrer que la plateforme 1,4,7-triazacyclononane, lorsqu'elle est substituée par des groupements picolinate, conduit à des systèmes rigides particulièrement bien adaptés pour la sensibilisation des ions Eu(III) et Tb(III). Notamment, une bonne efficacité de la luminescence intrinsèque du lanthanide a été mise en évidence. Afin de vérifier si cette constatation est également vérifiée pour les complexes émettant dans l'infrarouge, nous avons décidé d'incorporer des chromophores 8-hydroxyquinoléine dans ce type d'architecture.

II.2. Podates à pivot triazacyclononane possédant le chromophore 8-hydroxyquinoléine

Deux ligands de structures analogues au ligand H₃tpatcn ont été synthétisés (voir chapitre III). Leurs structures sont représentées Figure IV. 19. La synthèse du ligand H₃thqtcn avait déjà été publiée par J. P. Cross et P. G. Sammes mais aucune étude de complexation n'avait été réalisée.^[67]

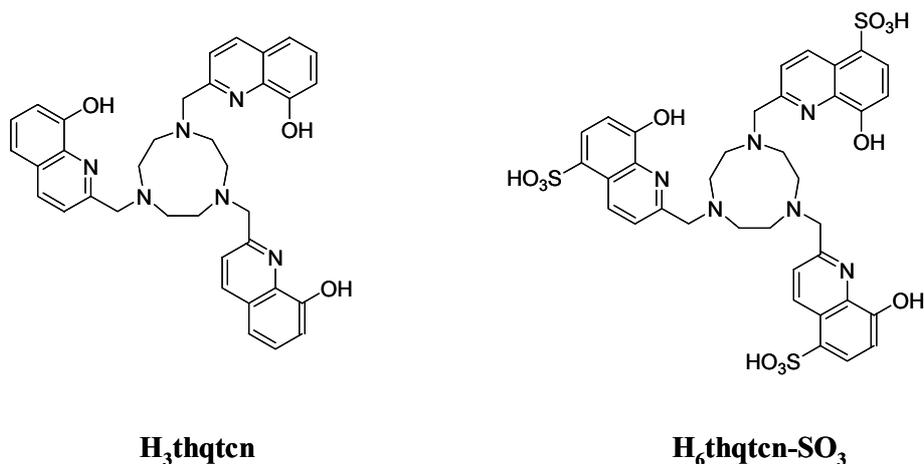


Figure IV. 19 : Podates dérivés de l'unité 8-hydroxyquinoléine.

II.2.1. Synthèse et étude des complexes avec le ligand H₃thqtcn

- Synthèse et caractérisation des complexes Ln : thqtcn 1 : 1

Les complexes de Ln(III) (Ln = Nd, Er, Yb) avec le ligand thqtcn³⁻ ont été synthétisés dans le méthanol par réaction de quantité équimolaires du triflate de lanthanide Ln(OTf)₃ et du ligand H₃thqtcn suivi de la lente diffusion d'une solution de KOH 1M (4.15 équivalents) à 4°C. Un solide jaune microcristallin est obtenu. Il est insoluble dans les solvants couramment utilisés au laboratoire. L'analyse élémentaire est en accord avec la formation des complexes [Ln(thqtcn)]. Des monocristaux de [Nd(thqtcn)] ont pu être obtenus par lente diffusion d'une solution de KOH 10⁻³ M dans une

solution diluée de $\text{Nd}(\text{OTf})_3$, H_3thqcn et KOH dans les proportions 1 : 1 : 0.85. Leur analyse par diffractométrie des rayons X indique la formation du complexe $[\text{Nd}(\text{thqtcn})]$. Le complexe centrosymétrique cristallise dans le groupe $\text{P}2(1)/c$ du système monoclinique ; la structure est représentée Figure IV. 20.

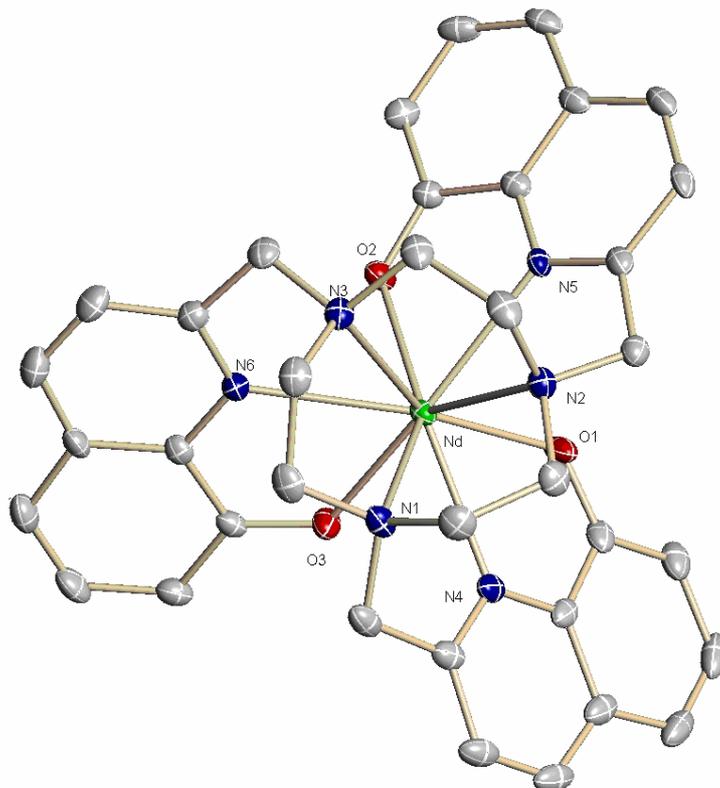


Figure IV. 20 : Diagramme ORTEP du complexe $[\text{Nd}(\text{thqtcn})]$ (ellipsoïde de probabilité à 30%).

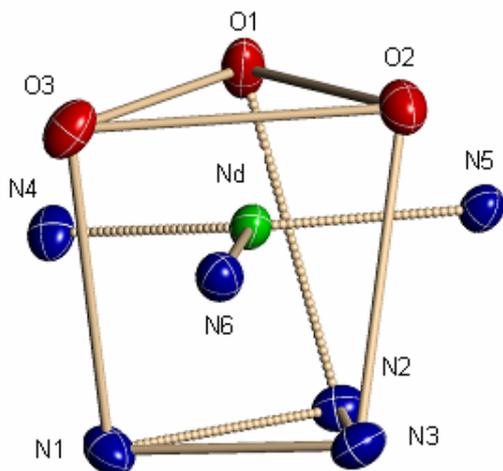


Figure IV. 21 : Polyèdre de coordination du complexe $[\text{Nd}(\text{thqtcn})]$.

Le polyèdre de coordination peut être décrit comme un prisme trigonal tricappé légèrement distordu (Figure IV. 21). Une symétrie C_3 est observée, l'axe passant au milieu du centre métallique et du cycle triazacyclononane. La première face triangulaire est formée par les trois azotes du triazacyclononane, la deuxième par les atomes d'oxygènes des hydroxyquinoléines. Chaque face « pseudo » rectangulaire

L'ion $\text{Nd}(\text{III})$ est nona-coordonné par les neuf atomes donneurs du ligand : trois azotes du 1,4,7-triazacyclononane, trois azotes et trois oxygènes des groupements hydroxyquinoléine. Les bras hydroxyquinoléine s'enroulent autour du métal en formant une triple hélice assez régulière ; les distances O-Nd-N sont données au Tableau IV. 3. Le complexe cristallise indifféremment dans la conformation Δ ou Λ . Une structure analogue a été observée au laboratoire pour les complexes de $[\text{Ln}(\text{tpatcn})]$ ($\text{Ln} = \text{Nd}, \text{Eu}, \text{Gd}$ et Lu).^[21]

est cappée par un atome d'azote. L'angle formé par les deux faces triangulaires est identique à celui observé pour le complexe [Nd(tpatcn)] (2° et 1.7° respectivement). De même, la distance entre les deux barycentres est très proche (3.56 Å à comparer avec 3.61 Å pour le complexe [Nd(tpatcn)]). L'angle formé par les atomes des faces rectangulaires vaut 22(2)° pour chacun des polyèdres. De même, les distances au centre métalliques peuvent être comparées à celles observées pour le complexe de [Nd(tpatcn)](Tableau IV. 3).

	distances / Å		angles / °	
	[Nd(thqtcn)]	[Nd(tpatcn)]	[Nd(thqtcn)]	
Nd-O(1)	2.393(3)	2.436(6)	O(1)-Nd-N(1)	119.00(11)
Nd-O(2)	2.409(3)	2.401(6)	O(2)-Nd-N(2)	119.72(11)
Nd-O(3)	2.406(3)	2.422(6)	O(3)-Nd-N(3)	121.16(12)
Nd-N(1)	2.788(4)	2.731(7)		
Nd-N(3)	2.789(3)	2.720(7)		
Nd-N(2)	2.796(4)	2.692(7)		
Nd-N(4)	2.609(4)	2.606(7)		
Nd-N(5)	2.621(4)	2.580(9)		
Nd-N(6)	2.608(4)	2.611(7)		

Tableau IV. 3 : Distances au centre métallique (en Å) pour [Nd(thqtcn)] et [Nd(tpatcn)] et sélection d'angles pour le complexe [Nd(thqtcn)].

Les distances moyennes M-N_{pyridinyl} observées pour le complexe [Nd(thqtcn)] sont très proches de celles observées avec le ligand tpatcn³⁻ (2.61(2) Å et 2.60(3) Å respectivement). Il en est de même pour les distances du centre métallique aux azotes du macrocycle (2.79(1) et 2.71(3) Å) et aussi pour les atomes d'oxygènes (2.40(1) Å et 2.42(3) Å). Ainsi, la sphère de coordination observée pour les complexes du ligand thqtcn³⁻ est très proche de celle des complexes de tpatcn³⁻ et indique une bonne encapsulation du métal par le ligand.

Nous avons envisagé l'étude des espèces Ln : thqtcn 1 : 1 (Ln = Nd, Er, Yb) en solution. L'étude RMN ¹H d'une solution aqueuse de ligand et d'ion Ln(III) dans la stœchiométrie 1 : 1 indique la formation d'une espèce paramagnétique symétrie C₃, soluble de aux alentours de pH = 5.

Ces résultats peuvent être interprétés par la formation à pH = 5 d'un complexe dans lequel le ligand est partiellement protonné alors que pour des pH plus basiques, la déprotonation du ligand résulte en la formation d'un complexe insoluble.

Afin de mieux contrôler la stœchiométrie, la même étude a été réalisée dans le méthanol. Des aliquotes de solution de KOD 1M ont été successivement ajoutés et la formation du complexe a été suivie par RMN ¹H. L'ajout de 0.85 équivalent de base est nécessaire à la formation du complexe. En deçà, la présence de ligand libre est observée, au-delà, un précipité jaune apparaît.

Le spectre RMN ¹H dans le méthanol, à 25°C, est similaire à celui obtenu préalablement dans l'eau (Figure IV. 22 et Figure IV. 23). Seulement onze résonances sont observées, en accord avec une symétrie C₃ des espèces en solution où les trois bras sont équivalents. L'analyse simultanée des

couplages scalaires et de l'effet Overhauser, à différentes températures, à permis l'attribution des protons des complexes M : thqtcn 1 : 1 avec M = Nd et Yb. L'attribution est illustrée Figure IV. 22 et Figure IV. 23. Pour le complexe d'Er(III), le recouvrement partiel des signaux rends l'analyse plus difficile. Quatre résonances correspondent aux protons méthylène diastéréotopiques du cycle triazacyclononane (Nd : $\delta = -0.01, -6.84, 8.72$ et 8.43 ppm ; Yb : $\delta = -13.16, -5.41, 3.60$ et 15.80 ppm) ; deux sont attribués aux protons méthylènes des bras (Nd : $\delta = -1.08$ et 5.03 ppm; Yb : $\delta = 4.18$ et 5.55 ppm) et cinq signaux sont assignés aux protons de l'hydroxyquinoléine (Nd : $\delta = 6.53, 6.73, 7.50, 8.41$ et 8.67 ppm ; Yb : $\delta = 4.47, 7.89, 8.27, 9.25$ et 9.99 ppm).

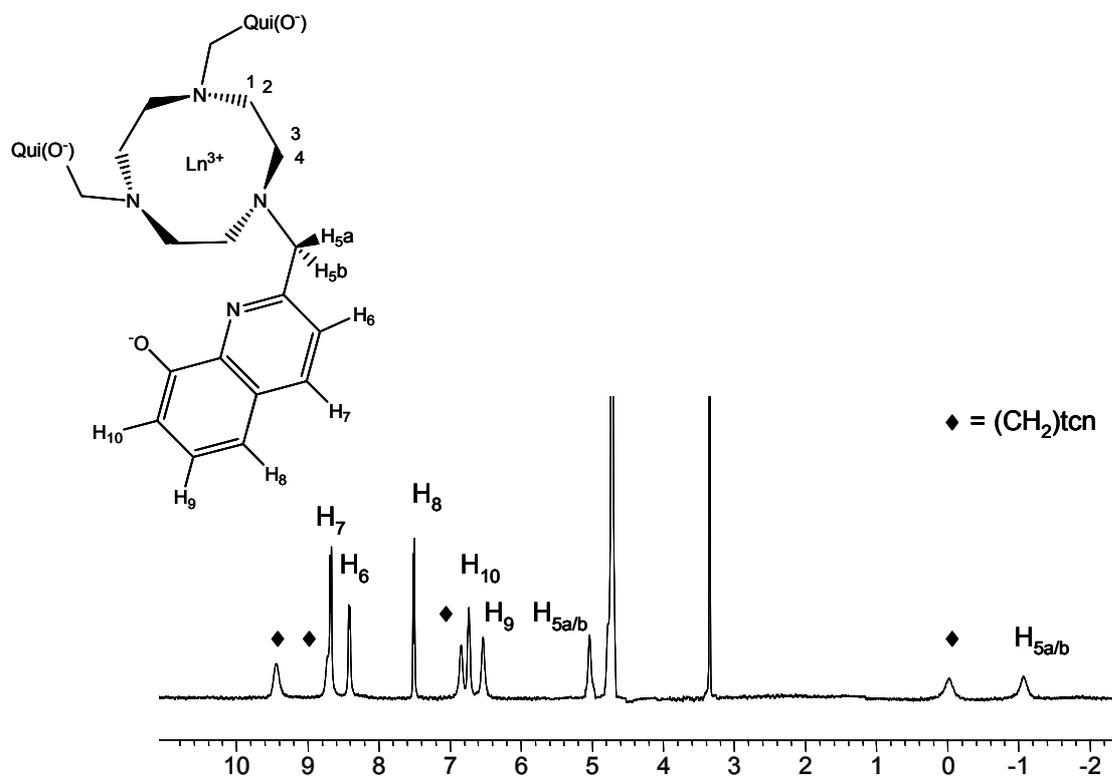


Figure IV. 22 : Spectre RMN ^1H du complexe $[\text{Nd}(\text{H}_n\text{thqtcn})]^{n+}$, MeOH, 40°C .

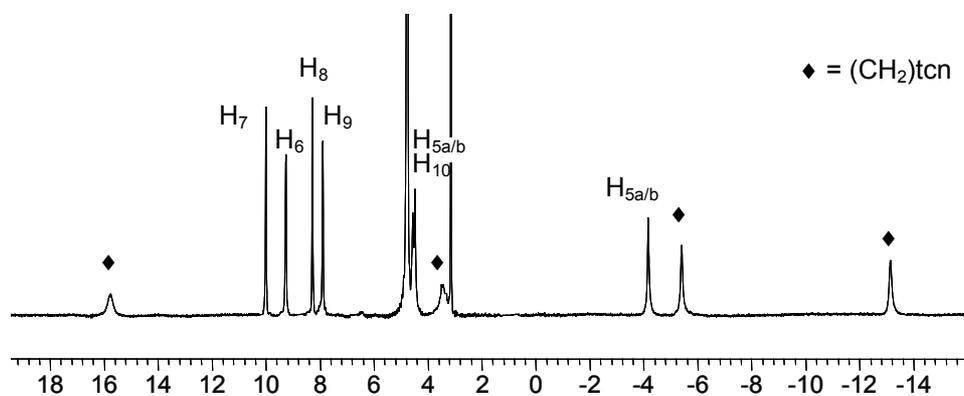


Figure IV. 23 : Spectre RMN ^1H du complexe $[\text{Yb}(\text{H}_n\text{thqtcn})]^{n+}$, MeOH, 15°C .

Le caractère diastéréotopique des protons des méthylènes indique la présence d'espèces rigides en solution, dans lesquelles le cycle triazacyclononane reste coordonné au centre métallique à l'échelle du temps de la RMN. De plus, le même nombre de signaux est observé pour les trois lanthanides étudiés et à des températures variant de 15°C à 70°C, indiquant l'absence de phénomène dynamique. Cette rigidité conformationnelle avait déjà été observée dans les cas des complexes de $[\text{Ln}(\text{tpatcn})]$.^[21]

La formation d'espèces protonnées est en accord avec le résultat des études physicochimiques effectuées sur les ligands Tsox (Figure IV. 24) et N-Trensox, un ligand tripode possédant trois unités 8-hydroxyquinoléines sulfonées.^[68] En effet, ces études ont mis en évidence l'existence de pKa élevés pour les groupements phénol de l'unité 5-sulfo-8-hydroxyquinoléine (entre 8.26 et 8.73 dans le ligand N-Trensox et entre 8.44 et 10.26 pour le tétrapode Tsox).

De plus, des titrations spectroscopiques du ligand Tsox par l'ion Eu(III) indiquent la formation de complexes pour lesquels le ligand est partiellement protonné (Figure IV. 24) Les auteurs ont montré que l'espèce deux fois protonnée $[\text{Eu}(\text{H}_2\text{L})]^{3-}$ est majoritaire à pH = 7. Toutefois, aucun de ces complexes n'avait été caractérisé à l'état solide.

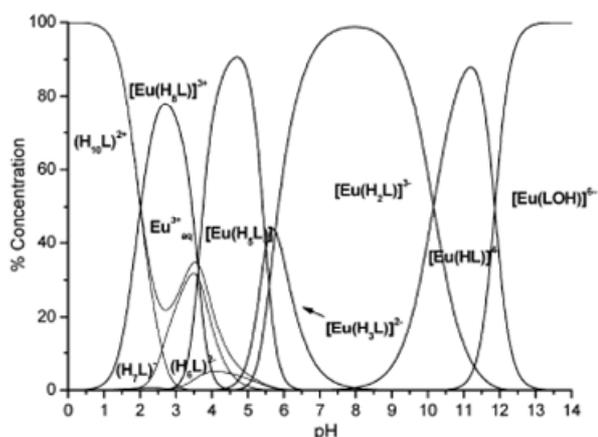


Figure IV. 24 : Distribution des espèces calculées pour des quantités stoechiométriques de ligand Tsox et de métal Eu : $[\text{L}]_{\text{tot}} = [\text{Eu}]_{\text{tot}} = 10^{-5} \text{M}$, 25°C^[11].

La présence de ces espèces a pu être confirmée par cristallisation d'un complexe protonné. En effet, nous avons isolé de manière reproductible des dimères centrosymétriques M_2L_2 de formule générale $[\text{M}_2\text{H}_3\text{L}_2](\text{OTf})_3 \cdot 3 \text{MeOH}$ dans lesquels trois groupements phénol des hydroxyquinoléines (sur six au total) sont protonnés. Pour chacun des ions Nd(III) et Yb(III), des monocristaux de qualité suffisante pour l'analyse par diffraction des rayons X ont été obtenus par lente diffusion d'isopropyl éther dans une solution 1 : 1 de $\text{Ln}(\text{OTf})_3$ et de ligand H_3thqtcn dans le méthanol. Les deux composés sont iso structuraux ; ils cristallisent dans le groupe P-1 du système triclinique. La structure cristallographique du dimère d'Yb(III) est représentée Figure IV. 25.

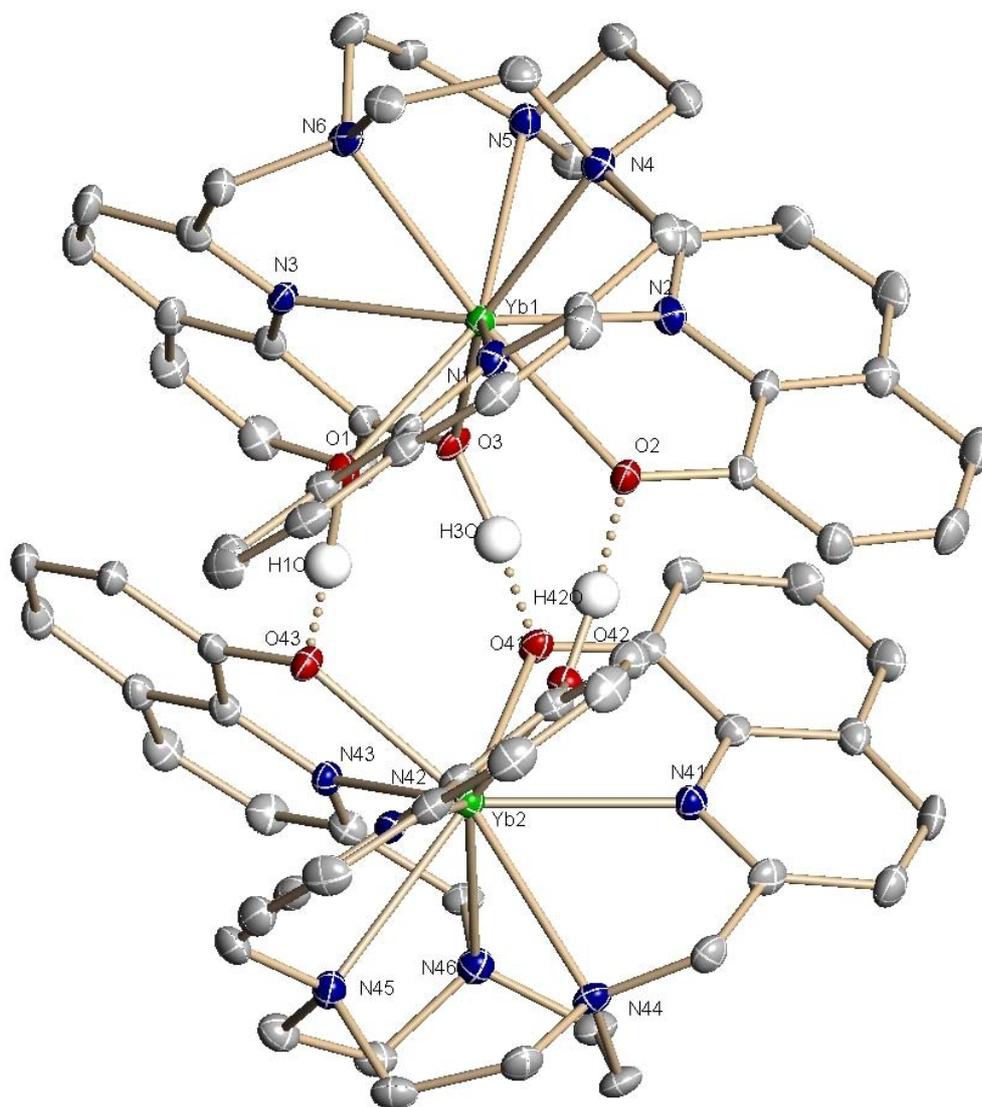


Figure IV. 25 : Diagramme ORTEP du complexe $\{[Yb(H_{3/2}thqten)]^{3/2+}\}_2$ (ellipsoïde de probabilité à 30%).

Deux complexes monomériques ML équivalents sont pontés par des liaisons hydrogènes entre les atomes d'oxygènes des fonctions phénol (O(1) et O(43), O(2) et O(42), O(3) et O(41)). Les liaisons hydrogènes sont fortes et symétriques (Tableau IV. 4). De plus, nous pouvons considérer que chaque proton est équitablement partagé entre les oxygènes des deux ligands qui possèdent chacun une charge $+3/2$.

[Nd ₂ H ₃ (thqtcn) ₂](OTf) ₃			[Yb ₂ H ₃ (thqtcn) ₂](OTf) ₃		
D	d(D-H) / Å	d(H...A) / Å	D	d(D-H) / Å	d(H...A) / Å
O(1)	1.12(4)	1.32(4)	O(1)	1.15(11)	1.31(11)
O(2)	1.16(5)	1.27(5)	O(2)	1.05(10)	1.39(10)
O(3)	1.19(5)	1.24(5)	O(3)	1.17(11)	1.26(11)

Tableau IV. 4 : Distances entre le donneur D et l'accepteur A pour les liaisons hydrogènes.

Les distances moyennes O-O sont similaires pour les deux structures (2.433(6) Å pour le complexe de Nd(III) et 2.43(2) Å pour le complexe d'Yb(III)). Chaque centre métallique a une sphère de coordination identique à celle d'un complexe [Ln(thqtcn)] pour laquelle les neuf atomes du ligand sont liés au métal. Dans le cas du dimère, le polyèdre de coordination trigonal tricappé de l'ion métallique est légèrement plus distordu que dans le cas du monomère. L'angle formé par les deux plans définis par les faces triangulaires du dimère est identique à celui du monomère (2°). Cependant, la distance entre les deux barycentres est significativement plus longue : 3.67 Å au lieu de 3.56 Å pour le Nd(III) et 3.60 Å pour l'Yb(III). Ceci est en accord avec une diminution de l'affinité du métal pour les oxygènes protonnés. En effet, si les distances moyennes M-N_{pyridinyl} sont identiques pour les structures dimériques et monomériques (2.58(1) Å et 2.61(2) Å respectivement), les distances M-O sont plus longues dans le dimère (2.48(3) Å au lieu de 2.40(1) Å). Il en résulte une distance plus courte pour les azotes du macrocycle dans le dimère par rapport au monomère (2.58(1) Å et 2.79(1) Å respectivement). Toutefois, ces deux distances sont relativement proches et indiquent que l'influence de la protonation du ligand sur la force de la liaison M-O reste faible. Notons que l'angle de torsion entre les atomes des faces rectangulaire reste inchangé. Les valeurs des distances M-L et les valeurs des angles O-M-N entre deux atomes donneurs d'une même unité hydroxyquinoléine sont présentées dans le Tableau IV. 5.

	[Nd ₂ H ₃ (thqtcn) ₂](OTf) ₃	[Yb ₂ H ₃ (thqtcn) ₂](OTf) ₃
M(1)-O(1)	2.5145(18)	2.405(4)
M(1)-O(2)	2.5044(18)	2.399(4)
M(1)-O(3)	2.4845(18)	2.367(4)
M(1)-N(1)	2.577(2)	2.473(5)
M(1)-N(2)	2.591(2)	2.489(5)
M(1)-N(3)	2.569(2)	2.466(5)
M(1)-N(4)	2.672(2)	2.579(6)
M(1)-N(5)	2.693(2)	2.614(6)
M(1)-N(6)	2.686(2)	2.615(5)
M(2)-O(41)	2.4645(18)	2.351(4)
M(2)-O(42)	2.4700(18)	2.356(4)
M(2)-O(43)	2.4929(18)	2.385(4)
M(2)-N(41)	2.598(2)	2.480(5)
M(2)-N(42)	2.598(2)	2.478(6)
M(2)-N(43)	2.586(2)	2.486(5)
M(2)-N(44)	2.703(2)	2.642(5)
M(2)-N(45)	2.702(2)	2.626(6)
M(2)-N(46)	2.707(2)	2.623(6)
O(1)-M(1)-N(4)	122.41(6)	126.18(16)
O(2)-M(1)-N(5)	122.12(6)	125.65(16)
O(3)-M(1)-N(6)	123.81(7)	127.36(17)
O(41)-M(2)-N(44)	122.46(6)	126.38(16)
O(42)-M(2)-N(45)	121.59(6)	125.46(17)
O(43)-M(2)-N(46)	121.20(6)	125.23(16)

Tableau IV. 5 : Distances aux centres métalliques (en Å) pour les complexes [Ln₂H₃(thqtcn)₂](OTf)₃ (Ln = Nd, Yb).

Une quantité suffisante de longues aiguilles jaunes de [Yb₂H₃(thqtcn)₂](OTf)₃ a été isolée pour effectuer la mesure du rendement quantique à l'état solide. Une fois cristallisé, le dimère est très peu soluble dans l'eau et dans le méthanol. Le résultat des mesures de luminescence à l'état solide sera présenté au paragraphe suivant.

- **Etudes de luminescence**

Les mesures de luminescence des complexes émettant dans l'infrarouge ont fait l'objet d'une collaboration avec le laboratoire du Pr. J. C. Bünzli à l'EPF Lausanne. Les complexes [Ln(thqtcn)] ont été étudiés à l'état solide. L'excitation large bande du ligand à 370 nm (27 027 cm⁻¹) permet de sensibiliser efficacement le métal. Les spectres d'émission possèdent les transitions f-f caractéristiques des complexes émettant dans l'infrarouge (Figure IV. 26). Le complexe [Yb(thqtcn)] est caractérisé par une bande large entre 920 et 1200 nm possédant un maximum à 976 nm, correspondant à la transition ²F_{5/2} → ²F_{7/2} et aux transitions vibroniques associées. Le spectre du complexe [Nd(thqtcn)] indique la présence de trois bandes d'émission, situées entre 845 et 1438 nm. Les deux principales, entre 845 et 930 nm et entre 1020 et 1130 nm sont respectivement attribuées aux transitions ⁴F_{3/2} → ⁴I_{11/2} et ⁴F_{3/2} → ⁴F_{9/2}; une autre bande moins intense est également présente entre 1290 et 1438 nm et correspond à la transition ⁴F_{3/2} → ⁴I_{13/2}. Enfin, le complexe [Er(thqtcn)] présente quatre

bandes aux alentours de 1533 nm, en adéquation avec la transition ${}^4I_{13/2} \rightarrow {}^4I_{15/2}$. Les quatre bandes, observées à 1474, 1514, 1556 et 1611 nm correspondent aux transitions vers les différents sous-niveaux de l'état ${}^4I_{15/2}$ et sont caractéristiques de l'influence du champ du ligand.

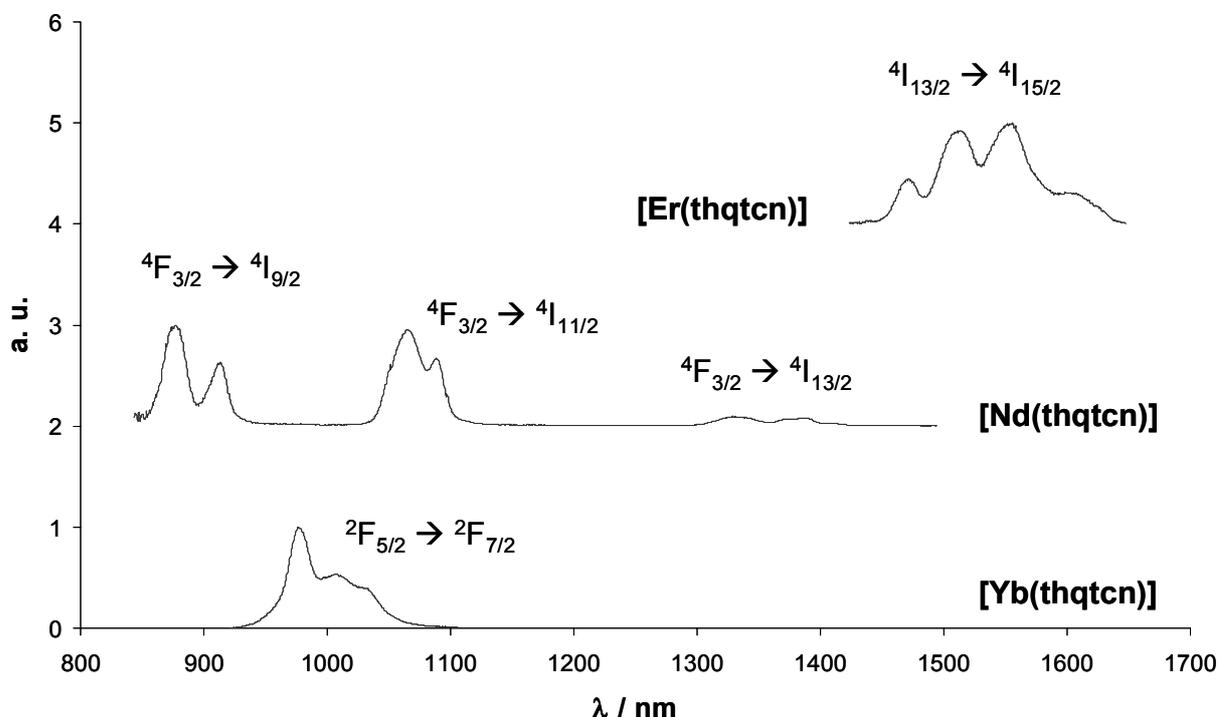


Figure IV. 26 : Spectres d'émissions normalisés ($\lambda_{ex} = 370$ nm) des complexes $[Ln(thqtcn)]$ à l'état solide ($Ln = Yb, Nd, Er$).

Après excitation du ligand, une décroissance temporelle mono exponentielle de la luminescence des états $Nd({}^4F_{3/2})$, $Yb({}^2F_{5/2})$ et $Er({}^4I_{13/2})$ est observée. Les temps de vie ainsi associés ainsi que les rendements quantiques absolus sont reportés dans le Tableau IV. 6.

	$\lambda_{ex} : \lambda_{em}$ (nm)	Φ_{tot} (%)	τ_{obs} (μs)
[Yb(thqtcn)]	370 : 976	0.60(2)	7.13(2)
[Yb₂H₃(thqtcn)₂](OTf)₃	370 : 978	0.26(1)	4.05(2)
[Nd(thqtcn)]	363 : 1063	0.10(1)	0.494(5)
[Er(thqtcn)]	371 : 1509	$4.32 \cdot 10^{-3}$ (10^{-4})	1.17(2)

Tableau IV. 6 : Temps de vie de luminescence et rendements quantiques des complexes $[Ln(thqtcn)]$ à l'état solide ($Ln = Yb, Nd, Er$).

Les temps de vie de luminescence des complexes [Ln(thqtcn)] sont supérieurs à ceux obtenus dans l'eau pour les autres ligands podants étudiés jusqu'ici (5.79(1), 0.25(3) et 0.65(3) pour les complexes du ligand TsoxMe en solution aqueuse avec les ions Yb(III), Nd(III) et Er(III))^[1]. Ils sont comparables aux valeurs obtenues très récemment à l'état solide par M. Albrecht et al avec un dérivé du 2-carboxamide-8-hydroxyquinoléine (Figure IV. 17 avec X = Y = H) : 11.1 μ s avec l'Yb(III), 0.39 μ s avec le Nd(III) et 1.15 μ s pour l'Er(III).^[54]

De même, les rendements quantiques des complexes de Yb(III) et Nd(III) sont deux fois plus importants que ceux mesurés avec le ligand TsoxMe (Figure IV. 14) ; la luminescence de l'ion Er(III) est cent fois plus intense. Les valeurs des rendement quantiques sont également très proches de celles obtenues par M. Albrecht et ses collaborateurs : 0.56(5) % pour le complexe d'Yb(III), 0.14(2) % avec le Nd(III) et $12 \cdot 10^{-3}$ % avec l'Er(III).

Une nette diminution du rendement quantique et du temps de vie associé est observée pour l'espèce dimérique [Yb₂H₃(thqtcn)₂](OTf)₃. Cette diminution peut être associée à la présence des protons des groupements hydroxyle qui représentent des oscillateurs O-H supplémentaires à proximité du métal et favorisent la désexcitation non-radiative.

Afin d'étudier l'effet de la plateforme 1,4,7-triazacyclononane sur la luminescence des complexes émettant dans l'infrarouge, nous avons déterminé une valeur approchée du rendement quantique intrinsèque Φ_{Ln}^{Ln} pour les complexes [Ln(thqtcn)] (Ln = Yb, Nd, Er). De même que pour les ions Eu(III) et Tb(III), le rendement quantique intrinsèque des ions Yb(III), Nd(III) et Er(III) est donné par le rapport du temps de vie mesuré dans H₂O sur le temps de vie radiatif τ_R (Equation IV.2). Les valeurs des temps de vie radiatifs communément utilisées pour les ions aqua sont les suivantes : 0.42 ms avec le Nd(III), 0.66 ms avec l'Er(III)^[69] et 2.0 ms avec l'ion Yb(III).^[70] Etant donné qu'aucunes des transitions de ces trois ions n'est influencée par la symétrie, nous pouvons considérer en première approximation, que les temps de vie radiatifs de nos complexes sont égaux à ceux reportés pour les complexes aqua (Tableau IV. 7).

	τ_R (ms)	Φ_{Ln}^{Ln} (%)	η_{sens}
[Yb(thqtcn)]	2.0	0.36	> 1
[Yb ₂ H ₃ (thqtcn) ₂](OTf) ₃	2.0	0.20	> 1
[Nd(thqtcn)]	0.42	0.12	0.85
[Er(thqtcn)]	0.66	0.12	0.024

Tableau IV. 7 : Rendements quantiques intrinsèques et facteur de sensibilisation estimés pour les complexes [Ln(thqtcn)] (Ln = Yb, Nd) à l'état solide.

Les données sont en accord avec une sensibilisation efficace des trois ions : le facteur de sensibilisation est environ égal à 0.02 pour l'Er(III), proche de 0.9 pour l'ion Nd(III), tandis que des valeurs supérieures à 1 sont obtenues pour les deux complexes avec l'ion Yb(III). Cela signifie que le temps de vie radiatif est supérieur à 2 ms dans nos systèmes. Des valeurs légèrement inférieures ont été obtenues en solution par S. Comby et al pour les complexes avec le ligand Tsox (0.01 pour l'ion Er(III), 0.7 pour l'ion Nd(III)).^[1]

II.2.2. Synthèse et étude des complexes avec le ligand $H_6thqtcn-SO_3$

Afin de permettre une meilleure comparaison des propriétés de luminescence des complexes du tripode $thqtcn^{3-}$ avec les composés tétrapodaux et dans le but d'une application pour l'imagerie biomédicale, la synthèse d'analogues solubles dans l'eau a été envisagée. La sulfonation de l'hydroxyquinoléine est connue pour augmenter la solubilité des complexes dans l'eau, grâce à la formation d'espèces chargées.^[66] Nous avons donc préparé le ligand $H_6thqtcn-SO_3$ (Figure IV. 19).

- Synthèse et caractérisation du complexe $[Nd(thqtcn-SO_3)]^{3-}$ en solution

Au vu du comportement similaire des complexes des lanthanides avec le ligand $H_3thqtcn$ sur toute la série, seul le complexe avec l'ion Nd(III) a été étudié. Le complexe de $[Nd(thqtcn-SO_3)]^{3-}$ a été préparé *in situ* en dissolvant des quantités équimolaires de ligand et de sel de lanthanide $Nd(OTf)_3$ dans D_2O et en ajustant le pD à 7.7 avec une solution de NaOD dans D_2O .

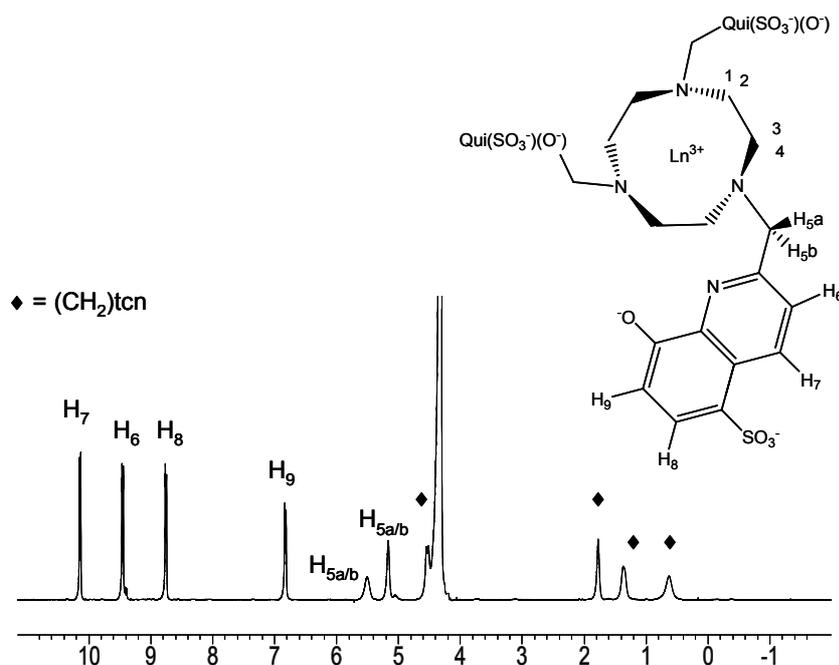


Figure IV. 27 : Spectre RMN ¹H d'une solution 1 : 1 Nd : H₃thqtcn dans D₂O, pD = 7.7, 400 MHz, 70°C.

Les spectres RMN ^1H dans l'eau (à 25°C et à 70°C) sont en accord avec la formation d'une espèce rigide de symétrie C_3 , comparativement à ce qui avait été observé pour les complexes protonnés du ligand H_3thqtcn (Figure IV. 27). Dix résonances sont observées. Les signaux ont été attribués après analyse des couplages scalaires et de l'effet Overhauser. Les protons méthylène diastéréotopiques du cycle triazacyclononane donnent naissance à quatre signaux ($\delta = 0.62, 1.30, 1.75$ et 4.50 ppm) ; deux résonances sont attribuées aux protons méthylènes des bras ($\delta = 5.16$ et 5.54 ppm) et les quatre dernières correspondent aux protons de l'hydroxyquinoléine ($\delta = 6.81, 8.75, 9.46$ et 10.52 ppm).

- **Etudes de luminescence**

Les complexes $[\text{Ln}(\text{thqtcn-SO}_3)]^{3-}$ ont été étudiés en solution dans le tampon Tris à $\text{pH} = 7.4$. Les complexes ont été synthétisés *in situ* en mélangeant le ligand $\text{H}_6\text{thqtcn-SO}_3$ et le sel de lanthanide $\text{Ln}(\text{OTf})_3$ correspondant dans les proportions stœchiométriques.

Les spectres d'émission sont représentés Figure IV. 28 et sont similaires à ceux obtenus à l'état solide pour les complexes $[\text{Ln}(\text{thqtcn})]$.

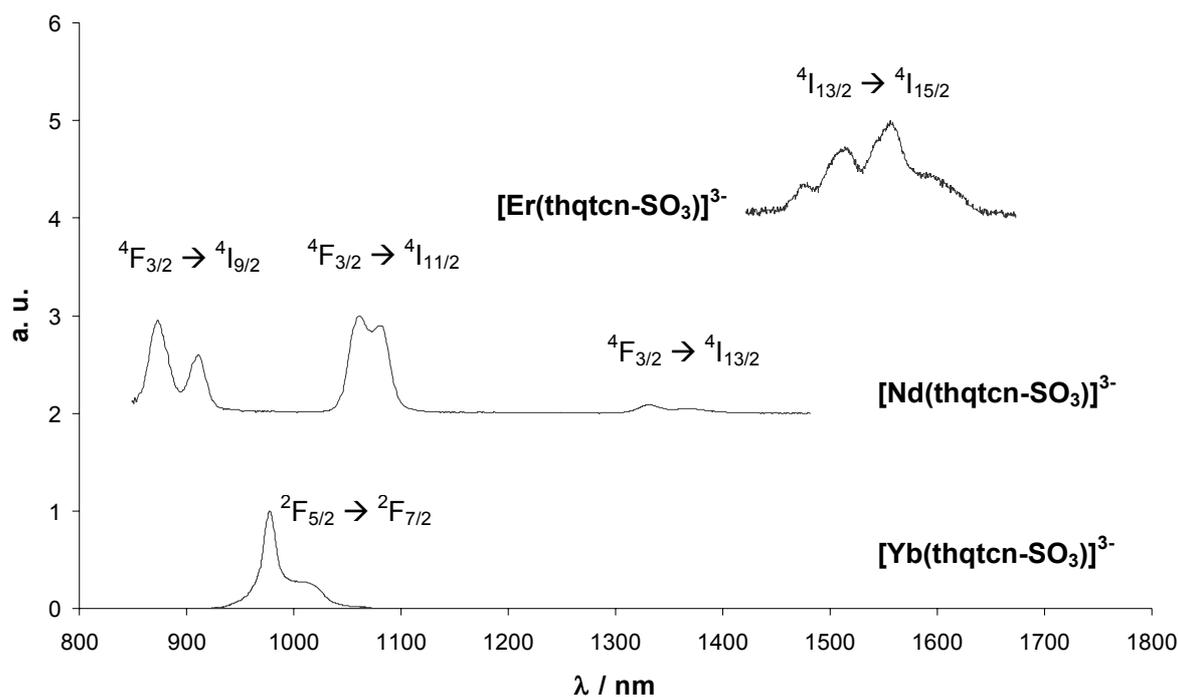


Figure IV. 28 : Spectres d'émissions normalisés ($\lambda_{\text{ex}} = 370$ nm) des complexes $[\text{Ln}(\text{thqtcn-SO}_3)]$ en solution dans le tampon Tris ($\text{pH} = 7.4$) ($\text{Ln} = \text{Yb}, \text{Nd}, \text{Er}$).

Les rendements quantiques et les temps de vie associés ont été déterminés par excitation du ligand à 370 nm (Tableau IV. 8).

	$\lambda_{ex} : \lambda_{em}$ (nm)	$\Phi_{tot H_2O}$ (%)	$\Phi_{tot D_2O}$ (%)	τ_{H_2O} (μ s)	τ_{D_2O} (μ s)	$q \pm 0.2$
$[Yb(thqtcn-SO_3)]^{3-}$	370 : 978	0.14 (1)	0.55(5)	2.05 (4)	8.63(4)	0.17
$[Nd(thqtcn-SO_3)]^{3-}$	370 : 1065	0.016 (1)	0.047(7)	0.16 (3)	0.413(23)	0.1
$[Er(thqtcn-SO_3)]^{3-}$	370 : 1509	$< 2 \cdot 10^{-3}$	$5.7 \cdot 10^{-3}(10^{-4})$	non mesurable	0.642(35)	-

Tableau IV. 8 : Temps de vie de luminescence et rendements quantiques des complexes $[Ln(thqtcn-SO_3)]$ en solution dans le tampon Tris (pH 7.4) et dans D_2O ($Ln = Yb, Nd, Er$).

De manière similaire aux études réalisés pour les complexes de Tb(III) et de Eu(III) dans le visible, la mesure des temps de vie de luminescence dans l'eau et dans D_2O permet, dans le cas des complexes d'Yb(III), d'accéder au nombre de molécules d'eau dans la première sphère de coordination du complexe. Les équations sont rappelées en Annexe 1. Les résultats confirment l'absence de molécules d'eau, en accord avec un complexe nona-coordonné, conformément aux structures cristallographiques obtenues pour le complexe $[Yb(thqtcn)]$ non sulfoné : $q = 0.17$ pour le complexe avec l'ion Yb(III) et $q = 0.1$ pour le complexe avec l'ion Nd(III). La valeur résiduelle est liée à l'incertitude de la méthode et provient vraisemblablement de la contribution soit de molécules d'eau dans la seconde sphère de coordination du complexe, soit des oscillateurs C-H à proximité du centre métallique.^[71]

Les complexes $[Ln(thqtcn)-SO_3]^{3-}$ avec les ions Yb(III) et Nd(III) se classent parmi les complexes émettant dans l'infrarouge les plus luminescents en solution aqueuse. Leurs rendements quantiques sont similaires à ceux obtenus pour les complexes de fluorexon^[57] (Figure IV. 14). Cependant, les rendements quantiques mesurés sont environ deux fois plus faibles que ceux obtenus pour les complexes avec le tétrapode TsoxMe et sont sensiblement égaux aux valeurs reportées cette année par S. Comby et al. pour les complexes avec le ligand tripodal T2oxMe^[46](Figure IV. 13).

Les rendements quantiques intrinsèques et les rendements de sensibilisation ont également été calculés de manière analogue aux complexes avec les ligands non-sulfonés. Les valeurs, dans l'eau et dans le D_2O , sont rassemblées dans le tableau ci-dessous (Tableau IV. 9).

	τ_R (ms)	Φ_{Ln, H_2O}^{Ln} (%)	Φ_{Ln, D_2O}^{Ln} (%)	η_{sens, H_2O}	η_{sens, D_2O}
$[Yb(thqtcn-SO_3)]^{3-}$	2.0	0.10	0.43	> 1	> 1
$[Nd(thqtcn-SO_3)]^{3-}$	0.42	0.04	0.10	0.42	0.48
$[Er(thqtcn-SO_3)]^{3-}$	0.66	-	0.10	-	0.06

Tableau IV. 9 : Rendements quantiques intrinsèques et facteur de sensibilisation estimés pour les complexes $[Ln(thqtcn-SO_3)]^{3-}$ ($Ln = Yb, Nd$) dans H_2O et dans D_2O .

Encore une fois, les rendements de sensibilisation des l'ion Yb(III) sont supérieurs à 1 et indiquent que le temps de vie radiatif du système est supérieur à 2 ms. Les facteurs de sensibilisation des ions Nd(III) et Er(III) sont du même ordre de grandeur pour les complexes avec le ligand thqtcn-SO₃⁶⁻ que ceux observés à l'état solide avec le ligand thqtcn³⁻. De manière similaire à ce qui a été observé dans la série avec les ligands dérivés du picolinate, les rendements quantiques intrinsèques sont supérieurs pour les complexes [Nd(thqtcn-SO₃)]³⁻ à ceux obtenus pour les complexes avec le ligand tétrapodal Tsox (0.04 % au lieu de 0.03 %). Cependant, au vu des faibles variations observées et des approximations effectuées pour la détermination de temps de vie radiatif, il est difficile de conclure de manière définitive quant à l'effet de la plateforme 1,4,7-triazacyclononane sur les rendements quantiques intrinsèques des complexes émettant dans l'infrarouge. Pour pouvoir observer l'effet de la géométrie du ligand, il faudrait pouvoir d'affranchir des vibrations dues aux liaisons C-H. Par exemple, la deutération ou la fluorination du ligand est envisagée.

En conclusion, nous avons montré que la luminescence des complexes de lanthanide est très sensible aux propriétés structurales du complexe. L'influence du chromophore fait l'objet de nombreuses études encore aujourd'hui La rigidité et la symétrie jouent également un rôle dans l'amélioration des propriétés de luminescence d'un complexe donné. En particulier, il semblerait que les complexes de symétrie C₃ basés sur le pivot 1,4,7-triazacyclononane conduisent à des rendements quantiques intrinsèques particulièrement élevés pour l'ion Eu(III), et dans une moindre mesure pour le Nd(III). Nous avons utilisé cette architecture pour la synthèse de complexes qui possèdent des rendements quantiques élevés en solution aqueuse. En effet, les complexes [Ln(thqtcn-SO₃)]³⁻ (Ln = Yb, Nd) se situent parmi les cinq complexes les plus luminescents dans l'infrarouge ($\Phi_{tot}^{Ln} = 0.14\%$ et 0.016%). Leurs analogues non-sulfonés [Ln(thqtcn)] possèdent également des propriétés très intéressantes à l'état solide. Quant au complexe [Tb(tpatcn)], il rivalise avec le complexe de Tb(III) le plus luminescent de la littérature avec un rendement quantique de 60 %.

Bibliographie

- [1] S. Comby, D. Imbert, A. S. Chauvin, J. C. G. Bunzli, *Inorg. Chem.* 2006, *45*, 732.
- [2] A. Dossing, *Eur. J. Inorg. Chem.* 2005, 1425.
- [3] I. Hemmilä, T. Stalberg, P. Mottram, *Bioanalytical Applications of Labeling Technologies*, Wallac-Oy, Turku, 1995.
- [4] A. d. Bettencourt-Dias, *Dalton Trans.* 2007, 2229.
- [5] J.-C. G. Bünzli, *Lanthanides Probes in Life, Chemical and Earth Sciences, Vol. 1989*, Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, 1989.
- [6] K. Binnemans, *Chem. Rev.* 2005, *105*, 4148.
- [7] a) B. Alpha, V. Balzani, J.-M. Lehn, S. Perathoner, N. Sabbatini, *Angew. Chem. Int. Ed.* 1987, *26*, 1266; b) J. P. Cross, A. Dadabhoy, P. G. Sammes, *J. Lumin.* 2004, *110*, 113.
- [8] H. R. Murner, E. Chassat, R. P. Thummel, J. C. G. Bunzli, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* 2000, 2809.
- [9] C. Piguet, J. C. G. Bunzli, G. Bernardinelli, G. Hopfgartner, S. Petoud, O. Schaad, *J. Am. Chem. Soc.* 1996, *118*, 6681.
- [10] F. Renaud, C. Piguet, G. Bernardinelli, J.-C. G. Bünzli, G. Hopfgartner, *Chem. Eur. J.* 1997, *3*, 1646.
- [11] C. Edder, C. Piguet, J. C. G. Bunzli, G. Hopfgartner, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* 1997, 4657.
- [12] M. Elhabiri, R. Scopelliti, J.-C. Bünzli, C. Piguet, *J. Am. Chem. Soc.* 1999, *121*, 10747.
- [13] C. D. B. Vandevyver, A. S. Chauvin, S. Comby, J. C. G. Bunzli, *Chem. Commun.* 2007, 1716.
- [14] T. Nishioka, J. L. Yuan, Y. Yamamoto, K. Sumitomo, Z. Wang, K. Hashino, C. Hosoya, K. Ikawa, G. L. Wang, K. Matsumoto, *Inorg. Chem.* 2006, *45*, 4088.
- [15] D. Parker, R. S. Dickins, H. Puschmann, C. Crossland, J. A. K. Howard, *Chem. Rev.* 2002, *102*, 1977.
- [16] A. S. Chauvin, F. Gumy, D. Imbert, J. C. G. Bünzli, *Spectrosc. Lett.* 2004, *37*, 517.
- [17] J. M. Senegas, G. Bernardinelli, D. Imbert, J. C. G. Bunzli, P. Y. Morgantini, J. Weber, C. Piguet, *Inorg. Chem.* 2003, *42*, 4680.
- [18] N. Chatterton, Y. Bretonnière, M. Mazzanti, J. Pécaut, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2005, *44*, 7595.
- [19] S. Petoud, S. M. Cohen, J.-C. Bünzli, K. N. Raymond, *J. Am. Chem. Soc.* 2003, *123*, 13324.
- [20] M. Latva, H. Takalo, V.-M. Mikkala, C. Matachescu, J.-C. Rodriguez-Ubis, J. Kankare, *J. Lumin.* 1997, *75*, 149.
- [21] C. Gateau, M. Mazzanti, J. Pecaut, F. A. Dunand, L. Helm, *Dalton Trans.* 2003, 2428.
- [22] I. Nasso, C. Galaup, F. Havas, P. Tisnès, C. Picard, S. Laurent, L. V. Elst, R. N. Muller, *Inorg. Chem.* 2005, *44*, 8293.
- [23] P. Atkinson, K. S. Findlay, F. Kielar, R. Pal, D. Parker, R. A. Poole, H. Puschmann, S. L. Richardson, P. A. Stenson, A. L. Thompson, J. Yu, *Org. Biomol. Chem.* 2006, *4*, 1707.

- [24] B. Alpha, R. Ballardini, V. Balzani, J. M. Lehn, S. Perathoner, N. Sabbatini, *J. Photochem. Photobiol.* 1990, *52*, 299.
- [25] M. H. V. Werts, R. T. F. Jukes, J. W. Verhoeven, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2002, *4*, 1542.
- [26] J. L. Ravanat, T. Douki, J. Cadet, *J. Photochem. Photobiol. B* 2001, *63*, 88.
- [27] T. Douki, J. Cadet, *Biochem.* 2001, *40*, 2495.
- [28] R. Weissleder, V. Ntziachristos, *Nat. Med.* 2003, *9*, 123.
- [29] K. Kuriki, Y. Koike, Y. Okamoto, *Chem. Rev.* 2002, *102*, 2347.
- [30] J. Kido, Y. Okamoto, *Chem. Rev.* 2002, *102*, 2387.
- [31] P. B. Glover, A. P. Bassett, P. Nockemann, B. M. Kariuki, R. V. Deun, Z. Pikramenou, *Chem. Eur. J.* 2007, *13*, 6308.
- [32] G. A. Hebbink, D. N. Reinhoudt, F. van Veggel, *Eur. J. Org. Chem.* 2001, 4101.
- [33] S. I. Klink, H. Keizer, F. C. J. M. V. Veggel, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2000, *39*, 4319.
- [34] P. D. Beer, F. Szemes, P. Passaniti, M. Maestri, , *Inorg. Chem.* 2004, *43*, 3965.
- [35] S. J. A. Pope, B. J. Coe, S. Faulkner, E. V. Bichenkova, X. Yu, K. T. Douglas, *J. Am. Chem. Soc.* 2004, *126*, 9490.
- [36] N. M. Shavaleev, G. Accorsi, D. Virgili, Z. R. Bell, T. Lazarides, G. Calogero, N. Armaroli, M. D. Ward, *Inorg. Chem.* 2005, *44*, 61.
- [37] D. Imbert, M. Cantuel, J. C. Bünzli, G. Bernardinelli, C. Piguet, *J. Am. Chem. Soc.* 2003, *125*, 15698.
- [38] J. C. Bünzli, C. Piguet, *Chem. Soc. Rev.* 2005, *34*, 1048.
- [39] A. Beeby, R. S. Dickins, S. Faulkner, D. Parker, J. A. G. Williams, *Chem. Commun.* 1997, 1401.
- [40] L. D. Bari, G. Pintacuda, P. Salvadori, *J. Am. Chem. Soc.* 2000, *122*, 5557.
- [41] S. Faulkner, M. C. Carrié, S. J. A. Pope, J. Squire, A. Beeby, P. G. Sammes, *Dalton Trans.* 2004, 1405.
- [42] F. J. Steemers, W. Verboom, D. N. Reinhoudt, E. B. Vandertol, J. W. Verhoeven, *J. Am. Chem. Soc.* 1995, *117*, 9408.
- [43] S. I. Klink, G. A. Hebbink, L. Grave, F. G. A. Peters, F. C. J. M. V. Veggel, D. N. Reinhoudt, J. W. Hofstraat, *Eur. J. Org. Chem.* 2000, *10*, 1923.
- [44] M. P. O. Wolbers, F. C. J. M. V. Veggel, F. G. A. Peters, E. S. E. V. Beelen, J. W. Hofstraat, F. A. J. Geurts, D. N. Reinhoudt, *Chem. Eur. J.* 1998, *4*, 772.
- [45] A. Beeby, B. P. Burton-Pye, S. Faulkner, G. R. Motson, J. C. Jeffery, J. A. McCleverty, M. D. Ward, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* 2002, 1923.
- [46] S. Comby, D. Imbert, C. Vandevyver, J. C. Bünzli, *Chem. Eur. J.* 2007, *13*, 936.
- [47] M. P. Tsvirko, S. B. Meshkova, V. Y. Venchikov, Z. M. Topilova, D. V. Bol'shoi, *Opt. Spectrosc. (Engl. Transl.)* 2001, *90*, 669.

- [48] H. S. Wang, G. D. Qian, M. Q. Wang, J. H. Zhang, Y. S. Luo, *J. Phys. Chem. B* 2004, *108*, 8084.
- [49] N. M. Shavaleev, S. J. A. Pope, Z. R. Bell, S. Faulkner, M. D. Ward, *Dalton Trans.* 2003, 808.
- [50] J. Zhang, P. D. Badger, S. J. Geib, S. Petoud, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2005, *44*, 2508.
- [51] S. Quici, M. Cavazzini, G. Marzanni, G. Accorsi, N. Armaroli, B. Ventura, F. Barigelletti, *Inorg. Chem.* 2005, *44*, 529.
- [52] Y. V. Korovin, N. V. Rusakova, Y. A. Popkov, V. P. Dotsenko, *J. Appl. Spectrosc. (Engl. Transl.)* 2002, *69*, 841.
- [53] R. V. Deun, P. Fias, P. Nockemann, A. Schepers, T. N. Parac-Vogt, K. V. Hecke, L. V. Meervelt, K. Binnemans, *Inorg. Chem.* 2004, *43*, 8461.
- [54] M. Albrecht, O. Osetska, J. Klankermayer, R. Frölich, F. Gumy, J. C. Bünzli, *Chem. Commun.* 2007, 1834.
- [55] S. I. Klink, L. Grave, D. N. Reinhoudt, F. C. J. M. V. Veggel, M. H. V. Werts, F. A. J. Geurts, J. W. Hofstraat, *J. Phys. Chem. A* 2000, *104*, 5457.
- [56] G. A. Hebbink, L. Grave, L. A. Woldering, D. N. Reinhoudt, F. C. J. M. V. Veggel, *J. Chem. Phys. A* 2003, *107*, 2483.
- [57] M. H. V. Werts, J. W. Verhoeven, J. W. Hofstraat, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* 2000, 433.
- [58] C. W. Tang, S. A. V. Slyke, *Appl. Phys. Lett.* 1987, *51*, 913.
- [59] O. M. Khreis, W. P. Gillin, M. Somerton, R. J. Curry, *Org. Electron.* 2001, *2*, 45.
- [60] W. P. Gillin, R. J. Curry, *Appl. Phys. Lett.* 1999, *74*, 798.
- [61] R. J. Curry, W. P. Gillin, *Appl. Phys. Lett.* 1999, *75*, 1380.
- [62] R. J. Curry, W. P. Gillin, *Synth. Met.* 2000, *111*, 35.
- [63] R. V. Deun, P. Fias, P. Nockemann, K. V. Hecke, L. V. Meervelt, K. Binnemans, *Eur. J. Org. Chem.* 2007, 302.
- [64] S. G. Leary, G. B. Deacon, P. C. Junk, *Z. Anorg. Allg. Chem.* 2005, *631*, 2647.
- [65] F. Artizzu, P. Deplano, L. Marchio, M. L. Mercuri, L. Pilia, A. Serpe, F. Quochi, R. Orru, F. Cordella, F. Meinardi, R. Tubino, A. Mura, G. Bongiovanni, *Inorg. Chem.* 2005, *44*, 840.
- [66] D. Imbert, S. Comby, A. S. Chauvin, J. C. Bünzli, *Chem. Commun.* 2005, 1432.
- [67] J. P. Cross, P. G. Sammes, *J. Chem. Research (S)* 2003, 704.
- [68] G. Serratrice, H. Boukhalifa, C. Béguin, P. Baret, C. Caris, J. L. Pierre, *Inorg. Chem.* 1997, *36*, 3898.
- [69] W. T. Carnall, in *Handbook on the Physics and Chemistry of Rare Earths, Vol. 3*, North-Holland Publ. Co. ed., K. A. Jr. Gschneidner L. Eyring, Amsterdam, 1979, p.172.
- [70] S. I. Klink, L. Grave, D. N. Reinhoudt, F. van Veggel, M. H. V. Werts, F. A. J. Geurts, J. W. Hofstraat, *J. Phys. Chem. A* 2000, *104*, 5457.
- [71] A. Beeby, I. M. Clarkson, R. S. Dickins, S. Faulkner, D. Parker, L. Royle, A. S. de Sousa, J. A. G. Williams, M. Woods, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* 1999, 493.

Conclusion et Perspectives

Dans ce travail de thèse, nous avons étudié la complexation des Ln(III) avec deux séries de ligands tripodes dérivés du picolinate à pivot 1,4,7-triazacyclononane d'une part, et à pivot azote central d'autre part. L'objectif principal de ce travail était de corrélérer la structure et l'architecture, aux propriétés de relaxivité des complexes de Gd(III), à leur stabilité thermodynamique et à l'efficacité de luminescence des complexes émettant dans le visible (Tb(III) et Eu(III)) et dans l'infrarouge (Yb(III), Nd(III) et Er(III)).

Notre premier axe de recherche a été dédié à l'étude de l'influence de la composition et de la symétrie de la sphère de coordination du métal sur sa vitesse de relaxation électronique. Il s'inscrit dans la continuité du travail réalisé sur le complexe C₃-symétrique [Gd(tpacn)] qui possède une relaxation électronique exceptionnellement lente à bas champ. Ce résultat avait été attribué d'une part à la symétrie élevée du complexe, et d'autre part, à sa rigidité et à un champ du ligand faible. Afin d'évaluer ces deux dernières contributions, le ligand H₃bpatcn, analogue dissymétrique du ligand H₃tpacn, a été étudié. Nous avons montré que le complexe formé avec l'ion Gd(III) incorpore une molécule d'eau dans sa sphère de coordination et possède de ce fait une relaxivité analogue à celle des agents de contraste commerciaux [Gd(DTPA)(H₂O)]²⁻ et [Gd(DOTA)(H₂O)]⁻. Une étude structurale par RMN ¹H a mis en évidence l'existence d'un échange lent entre deux énantiomères de symétrie C₁ en solution. Une nouvelle méthode d'étude de la relaxation électronique basée sur l'utilisation de solutés sondes a été mise au point. Elle fait intervenir une description théorique plus précise de la relaxation électronique tenant compte des fluctuations du Zero Field Splitting liées à la rotation du complexe. Ainsi, nous avons montré que la relaxation électronique en champ nul du complexe [Gd(bpatcn)(H₂O)] est similaire à celle de son analogue symétrique [Gd(NOTA)(H₂O)₂] et qu'elle reste lente aux champs de l'IRM en comparaison des complexes classiques. Ces résultats confirment que la plateforme 1,4,7-triazacyclononane et la présence de groupements picolinate sont favorables à une relaxation électronique lente. Les paramètres dynamiques du système (son temps de corrélation rotationnelle et la vitesse d'échange des molécules d'eau dans sa première sphère de coordination) ont également été déterminés. La cinétique d'échange de l'eau est caractéristique d'un complexe à échange lent du type [Gd(DTPA)(H₂O)]²⁻ et est nettement inférieure à la vitesse optimale prédite par la théorie.

L'optimisation simultanée de la relaxation électronique et de la vitesse d'échange des molécules d'eau en sphère interne est nécessaire pour obtenir des relaxivités élevées après greffage des petits complexes sur une macromolécule. Si les développements en matière de relaxation électronique sont peu nombreux, nous savons que, pour des systèmes mono-aqua, l'introduction d'un encombrement stérique au niveau du métal accélère l'échange de l'eau. En appliquant cette stratégie, deux analogues du complexe [Gd(bpatcn)(H₂O)] ont été développés : le complexe [Gd(ebpatcn)(H₂O)], incorporant un groupement propionate et le complexe [Gd(pbpatcn)(H₂O)]⁻ qui possède un groupement phosphonate.

Conformément à nos attentes, la vitesse d'échange a été multipliée par un facteur supérieur à 100. Cependant, l'incorporation du groupement phosphonate se traduit par une relaxation électronique défavorable, qui devient extrêmement rapide quel que soit le champ considéré et même l'une des plus rapides observée jusqu'ici. En revanche, les mesures effectuées sur le complexe [Gd(ebpatcn)(H₂O)] semblent indiquer des propriétés de relaxation électroniques favorables (similaires à celles du complexe [Gd(bpatcn)(H₂O)]). L'étude quantitative de sa relaxation électronique devrait être réalisée au laboratoire dans un futur proche. De plus, des travaux sont en cours en vue d'étudier l'influence de l'hétérocycle sur la relaxation électronique ; notamment l'étude du complexe de Gd(III) avec le ligand H₃thqtcn-SO₃. Afin de vérifier l'influence des atomes d'azote donneurs sur la relaxation électronique, des nouveaux systèmes symétriques polyazotés sont également en cours d'élaboration.

Cependant, si les agents macromoléculaires à relaxation électronique lente sont intéressants pour les champs de l'imagerie actuels, ils ne sont pas utilisables pour les techniques d'imagerie à hauts champs en cours de développement. Pour ce type d'applications, les complexes de taille intermédiaire possédant plusieurs molécules d'eau dans leur sphère de coordination sont les plus prometteurs. Ainsi, nous avons modifié la structure du complexe bis-aqua [Gd(tpaa)(H₂O)₂] dont la relaxivité est encourageante mais la solubilité trop faible. Les complexes [Gd(dpaa)(H₂O)₃], [Gd(dpaba)(H₂O)₂]⁻ et [Gd(mpatcn)(H₂O)₂] résultants possèdent une structure rigide en solution avec entre 2 et 3 molécules d'eau dans leur première sphère de coordination. Ces complexes ont montré une relaxivité élevée dans l'eau à haut champ, en accord avec leur nombre d'hydratation élevé et une vitesse d'échange de l'eau en sphère interne rapide. Leurs paramètres dynamiques (coefficient de diffusion translationnelle, vitesse d'échange de l'eau et temps de corrélation rotationnelle) ont été déterminés de manière indépendante par une nouvelle méthode spécialement mise au point. Un des inconvénients des systèmes dont le nombre d'hydratation est supérieur à un, est lié au déplacement des molécules d'eau de sphère interne par les ligands biologiques. De ce fait, nous avons étudié de manière qualitative l'influence des anions endogènes et des protéines sur la relaxivité. Nous avons montré, que même si l'interaction des anions endogènes au niveau du centre métallique conduit à un déplacement partiel des molécules d'eau, la relaxivité reste supérieure à celle des agents de contraste mono-aqua de première génération. De plus, leur relaxivité est légèrement supérieure dans le sérum. Des différences d'affinité sont observées pour les trois complexes [Gd(dpaa)(H₂O)₃], [Gd(dpaba)(H₂O)₂]⁻ et [Gd(mpatcn)(H₂O)₂], indiquant que celle-ci est fortement influencée par l'architecture du complexe.

Nous avons également étudié l'apport du groupement picolinate à la stabilité des complexes de Gd(III) selon qu'il soit incorporé dans l'une ou l'autre des deux architectures. Les deux séries de ligand ont conduit à la formation de complexes relativement stables en solution aqueuse. Des pM variant de 12.3 pour le complexe avec le ligand heptadente dpaa³⁻ à pM = 14.9 avec le ligand nonadente tpatcn³⁻ ont été mesurés. Au sein d'une même série, la stabilité thermodynamique d'un complexe est d'autant plus

importante que les interactions électrostatiques avec le ligand sont fortes et que l'effet chélate est important. Toutefois, il est intéressant de noter que le complexe bis-aqua $[\text{Gd}(\text{dpaba})(\text{H}_2\text{O})_2]^-$ possède, à pH physiologique, une stabilité analogue ($pM = 13.3$) à celle du complexe mono-aqua $[\text{Gd}(\text{bpatcn})(\text{H}_2\text{O})]$ ($pM = 13.6$).

En général, les complexes possédant des valeurs de pM inférieures à 15-16 ont montré une toxicité *in vivo*. Pour une utilisation *in vivo*, il est donc indispensable d'augmenter encore la stabilité thermodynamique des complexes. L'utilisation d'amines aromatiques plus basique (imidazole, tétrazole) pourrait être envisagée. Notons également que l'inertie cinétique de nos systèmes est à améliorer.

L'intérêt de ces structures est qu'elles conduisent à l'élaboration de sondes bimodales qui possèdent une luminescence intense si l'ion Gd(III) est remplacé par le Tb(III) , et dans une moindre mesure l' Eu(III) . En dépit de la présence de molécules d'eau dans leur sphère de coordination, des rendements quantiques importants voire nettement supérieurs aux complexes de Ln(III) commerciaux ont été obtenus. La comparaison des rendements quantiques absolus et intrinsèques sur toute la série a permis de mettre en évidence l'importance de la symétrie et de la rigidité des complexes sur leur efficacité de luminescence. Nous avons montré que les complexes tripodaux basés sur l'architecture 1,4,7-triazacyclononane sont plus luminescents que leurs analogues tétrapodaux. Leur rendement quantique intrinsèque est bien meilleur et semble indiquer une meilleure protection du métal vis-à-vis des désexcitations non-radiatives. En particulier, avec un rendement quantique absolu de 60%, le complexe $[\text{Tb}(\text{tpatcn})]$ est l'un des plus luminescents d'après les données de la littérature. Au vu du succès de ce type d'architecture, nous avons utilisé cette même plateforme pour la synthèse de complexes émettant dans l'infrarouge. Les complexes $[\text{Ln}(\text{thqtcn})]$ insolubles possèdent une luminescence intense à l'état solide. De même, les rendements quantiques de leurs analogues sulfonés $[\text{Ln}(\text{thqtcn}-\text{SO}_3)]^{3-}$ ($\text{Ln} = \text{Yb}, \text{Nd}$) se situent parmi les cinq meilleurs en solution aqueuse ($\Phi_{\text{tot}}^{\text{Ln}} = 0.14\%$ et 0.016%). Afin de pouvoir rationaliser d'avantage ces résultats, il serait intéressant de pouvoir quantifier le rendement du transfert d'énergie du ligand vers le métal. Pour cela, la mesure des états triplets des différents ligands est envisagée.

Finalement, même si les stabilités de nos complexes semblent faibles pour une utilisation *in vivo* chez l'homme, l'utilisation de ces complexes pour l'imagerie du petit animal a été testée. Des injections de complexes $[\text{Gd}(\text{dpaba})(\text{H}_2\text{O})_2]^-$ ont été réalisés chez le rat ; aucun décès n'a été constaté durant les trois premières heures suivant l'injection révélant l'absence de toxicité aigue. Des images IRM du cerveau ont pu être réalisées en collaboration avec le Laboratoire de Neuroimagerie Fonctionnelle et Métabolique de Grenoble (UMR UJF/INSERM U594). Nous avons observé que l'agent de contraste se distribue essentiellement dans les vaisseaux sanguins des muscles (Figure 1).

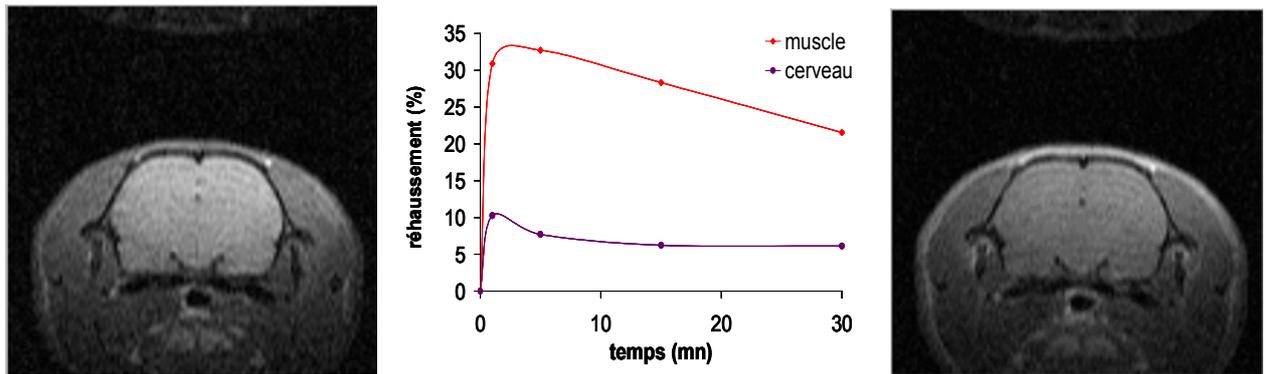


Figure 1 : Images de cerveaux de rats pondérées T_1 à 2.35 T avant (à gauche) et après injection de $[Gd(dpaba)(H_2O)_2]^-$ (0.056 mmol/kg) (à droite) ainsi que le rehaussement observé dans le muscle et dans le cerveau en fonction du temps.

Ces expériences préliminaires sont encourageantes et l'utilisation de tels systèmes pourrait être envisagée pour des tests expérimentaux sur les petits animaux. De même, des études de luminescence *in vivo* sont envisagées.

Partie expérimentale

I. Généralités	241
I.1. Réactifs et solvants	241
I.2. Chromatographies	241
I.3. Caractérisation	243
II. Synthèse des ligands	243
II.1. Ligand H ₃ bpatcn	243
II.2. Ligand H ₃ ebpatcn	248
II.3. Ligand H ₄ pbpatcn	250
II.4. Ligand H ₃ mpatcn	252
II.5. Ligand H ₃ thqtcn	253
II.6. Ligand H ₆ thqtcn-SO ₃	256
II.7. Ligand H ₃ dpaa	257
II.8. Ligand H ₄ dpaba	259
III. Synthèse des complexes de Ln(III)	260
III.1. Ligand bpatcn ³⁻	260
III.2. Ligand ebpatcn ³⁻	262
III.3. Ligand pbpatcn ⁴⁻	263
III.4. Ligand mpatcn ³⁻	264
III.5. Ligand dpaa ³⁻	265
III.6. Ligand dpaba ⁴⁻	266
III.7. Ligand thqtcn ³⁻	267
III.8. Ligand thqtcn-SO ₃ ⁶⁻	270
IV. Méthodes analytiques	270
IV.1. Etudes potentiométriques	271
IV.2. Mesures de luminescence	273
IV.3. Etudes par Spectroscopie par Résonance Magnétique Nucléaire	276
IV.4. Mesure des temps de relaxation de ¹⁷ O	281
IV.5. Relaxométrie	281
V. Cristallographie	282

I. Généralités

1.1. Réactifs et solvants

Les solvants et les réactifs commerciaux proviennent de chez Aldrich, Fluka, Acros, Alfa ou Carlo Erba et ont été utilisés sans purification supplémentaire sauf si spécifié. L'acétonitrile, le dichlorométhane et le méthanol anhydres sont achetés chez Aldrich et utilisés sans purification supplémentaire. Le tétrahydrofurane (THF) anhydre est obtenu par distillation sur potassium en présence de benzophénone. La triéthylamine est séchée par distillation sur hydroxyde de potassium. La verrerie utilisée est systématiquement séchée à l'étuve à 130°C puis à l'aide de 5 cycles vide/argon. Les sels de lanthanides anhydres $\text{Ln}(\text{OTf})_3$ et hydratés $\text{LnCl}_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ proviennent de chez Aldrich et Alfa Aesar. Ceux-ci sont dosés avant utilisation (voir § III.).

1.2. Chromatographies

I.2.1. CCM et colonnes

Les chromatographies sur couche mince ont été réalisées sur des plaques de gel de silice 60 F₂₅₄ Merck ou sur des plaques d'oxyde d'aluminium 60 F₂₅₄ neutre Merck.

Les chromatographies sur colonne ont été réalisées sur gel de silice Si 60 (40-63 μm) Merck ou sur oxyde d'aluminium 90 activité III (4.9 % d'eau en masse, 63-200 μm) Merck.

I.2.2. HPLC

- HPLC analytique

Colonne :

- puerosphere RP 18
- $p = 5 \mu\text{m}$
- $L = 250 \text{ mm}$
- $\varnothing = 5 \text{ mm}$
- $d = 1 \text{ mL/min}$

Détection (UV) :

- $\lambda = 270 \text{ nm}$

Éluants :

- A : $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}/\text{TFA} 90/10/0.1$
- B : $\text{H}_2\text{O}/\text{TFA} 99.925/0.075$

Méthode :

Au départ, la colonne est conditionnée dans l'éluant B (100 %). Trois gradients linéaires sont successivement appliqués pour éluer le composé à analyser (jusqu'à atteindre une concentration en A de 100%). Pour finir, un dernier gradient est appliqué jusqu'à atteindre à nouveau une concentration en B de 100 %.

Les gradients sont définis de la manière suivante :

t (min)	A (%)	B(%)
0	0	100
5	0	100
5.1	5	95
10	5	95
15	20	80
20	40	60
25	100	0
30	100	0
32	0	100

Des injections de 20 mL de solution à 1 mg/mL dans la solution B sont réalisées.

- HPLC préparative

Colonne :

- purosphere RP 18
- p = 10 µm
- L = 250 mm
- Ø = 50 mm
- d = 75 mL/min

Détection (UV) :

- λ = 270 nm

Éluants :

- A : CH₃CN/H₂O/TFA 90/10/0.1
- B : H₂O/TFA 99.925/0.075

Méthode :

Au départ, la colonne est conditionnée dans l'éluant B (100 %). Quatre gradients linéaires sont successivement appliqués pour éluer le composé à analyser (jusqu'à atteindre une concentration en A de 100%). Pour finir, un dernier gradient est appliqué jusqu'à atteindre à nouveau une concentration en B de 100 % et la colonne est rincée avec l'éluant B. Les gradients sont définis selon le tableau ci-contre.

t (min)	A (%)	B(%)	
0	0	100	
3	0	100	
3.1	5	95	
8	5	95	
13	20	80	
18	40	60	
22	40	60	
25	100	0	
27	100	0	
30	0	100	
32	0	100	solution

Des injections de 50 à 75 mg d'échantillon dans 2 mL de B sont réalisées.

1.3. Caractérisation

Les spectres RMN ^1H et ^{13}C ont été enregistrés sur des spectromètres Bruker Avance DMX 200, Varian Unity et Varian Mercury 400. Les déplacements chimiques sont donnés en ppm en utilisant le signal résiduel du solvant comme référence interne. Les abréviations utilisées pour décrire la multiplicité des signaux sont les suivantes : s (singulet), d (doublet), dd (doublet de doublet), t (triplet), et m (multiplet).

Les spectres de masse d'ionisation par électrospray (ES-MS) ont été enregistrés en mode positif (ES^+) sur un spectromètre Finnigan LCQ à trappe d'ions.

La plupart des analyses élémentaires ont été effectuées, en milieu aéré, au Service Central d'Analyse du CNRS à Vernaison. Les analyses élémentaires sous atmosphère d'argon ont été réalisées au laboratoire d'analyse des professeurs H. Malissa et G. Reuter, à Lindlar, en Allemagne.

II. Synthèse des ligands

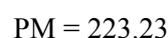
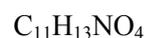
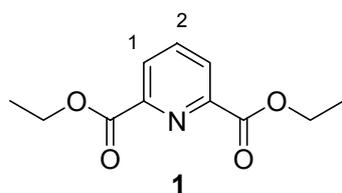
II.1. Ligand H_3bpatcn

- 6-chloromethylpyridine-2-carboxylic acid ethyl ester (**3**)

Le 6-chloromethylpyridine-2-carboxylic acid ethyl ester a été synthétisé en 3 étapes à partir de l'acide 2,6-dipicolinique commercial selon la procédure décrite par Fornasier et al.^[1]

- Pyridine-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester (**1**) :

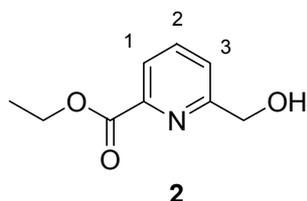
A une suspension de diacide picolinique (25.2 g, 150.8 mmol) dans l'éthanol (500 mL), on ajoute goutte à goutte de l'acide sulfurique concentré (70 mL). Le mélange est ensuite porté à reflux pendant 18h. Après évaporation de l'éthanol, le milieu réactionnel est neutralisé ($\text{pH} = 7$) avec une solution de NaHCO_3 de concentration massique 10%. Le pyridine-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester est extrait au chloroforme (5×250 mL). La phase organique est séchée sur Na_2SO_4 anhydre, filtrée et évaporée à sec (20 mmHg) pour donner le diester attendu sous forme d'un solide incolore (33.7 g, 100%).



RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ=1.45 (t, J = 7.2 Hz, 6H, COOCH₂CH₃), 4.48 (q, J = 7.2 Hz, 4H, COOCH₂CH₃), 7.99 (t, J = 7.8 Hz, 1H, H₂), 8.27 (d, J = 7.8 Hz, 2H, H₁).

- *6-hydroxymethyl-pyridine-2-carboxylic acid ethyl ester (2)* :

A une solution de **1** (65.3 g, 292.5 mol) dans l'éthanol (500 mL), on additionne NaBH₄ (8.9 g, 233.4 mmol) par portions sur 1h à température ambiante. Après 1h, le mélange est chauffé à 50°C. La réaction est suivie par CCM : la formation de l'alcool **2** souhaité et du diol 2,6-dihydroxyméthyl-pyridine comme produit secondaire est observée. La réaction est stoppée après 1h30. Le mélange réactionnel est ensuite concentré à demi. NaBH₄ en excès est hydrolysé avec de l'eau MilliQ (300 mL) puis le mélange est concentré à nouveau. L'alcool désiré **2** est extrait au chloroforme (3×300 mL). La phase organique est séchée sur Na₂SO₄ anhydre, filtrée et évaporée à sec (20 mmHg) pour donner, après recristallisation dans l'éthanol, l'alcool **2** sous forme d'un solide blanc (24.1g, 45%).



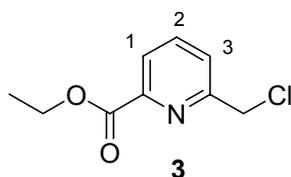
C₉H₁₁NO₃

PM = 181.19

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ=1.46 (t, J = 7.0 Hz, 3H, COOCH₂CH₃), 4.50 (q, J = 7.0 Hz, 2H, COOCH₂CH₃), 4.87 (s, 2H, CH₂OH), 7.49 (d, J = 7.8 Hz, 1H, H₃), 7.86 (t, J = 7.8 Hz, 1H, H₂), 8.03 (d, J = 7.8 Hz, 1H, H₁).

- *6-chloromethylpyridine-carboxylic ethyl ester (3)* :

A 20 mL de chlorure de thionyle à 0°C, on additionne l'alcool **2** (6.00 g, 33.11 mmol) par portions sous agitation. Le mélange est agité pendant 1h à 0°C. Le chlorure de thionyle est distillé sous vide (20 mmHg) puis co-évaporé avec du toluène (2 ×10 mL). L'huile obtenue est dissoute dans du toluène (80 mL) et lavée avec une solution saturée de NaHCO₃ (100 mL). La solution est extraite avec du toluène (2×25 mL). La phase organique est séchée sur Na₂SO₄ anhydre, filtrée et évaporée à sec (20 mmHg, 30°C) pour donner le dérivé chloré sous forme d'une huile incolore. L'huile obtenue est ensuite chromatographiée sur colonne d'alumine activité III (50 g, CH₂Cl₂) pour obtenir le composé **3** sous la forme d'une huile jaune pâle (6.08 g, 92%).



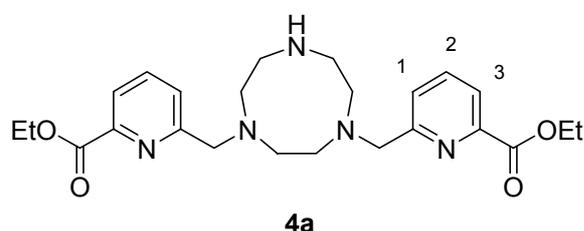
C₉H₁₀O₂NCl

PM=199.64

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ=1.44 (t, 3H, J = 7.0 Hz, COOCH₂CH₃), 4.48 (q, 2H, J = 7.0 Hz, COOCH₂CH₃), 4.79 (s, 2H, CH₂Cl), 7.73 (d, J = 7.6 Hz, 1H, H₃), 7.89 (t, J = 7.6 Hz, 1H, H₂), 8.06 (d, J = 7.6 Hz, 1H, H₁).

- **1,4-bis[(6-carbéthoxy-pyridin-2-yl)méthyl]-1,4,7-triazacyclononane (4a) & 1-(6-carbéthoxy-pyridin-2-yl)méthyl]-1,4,7-triazacyclononane (4b)**

A une solution du dérivé chloré **3** (0.200 g, 1.002 mmol) dans l'éthanol anhydre (2 mL) sous atmosphère d'argon, on ajoute successivement le 1,4,7-triazacyclononane tris-HCl, (0.240 g, 1.002 mmol) et la diisopropylethylamine (0.62 mL, 3.757 mmol). Après 2h d'agitation à température ambiante, le mélange réactionnel est porté à reflux. Après 18h, le brut réactionnel est évaporé à sec (10 mmHg) puis dissout dans un minimum de dichlorométhane. Le triazacyclononane en excès est éliminé par filtration et le solvant est évaporé (10 mmHg). Le produit brut obtenu correspond à un mélange des dérivés mono-, bi- et tri-substitués. Ces trois produits sont séparés par chromatographie flash sur colonne d'alumine activité III (80g, CH₂Cl₂/EtOH 100/0, 90/10, 80/20 et 50/50). On obtient majoritairement le dérivé bi-substitué **4a** désiré sous forme d'une huile jaune pâle (0.142 g, 62%).



C₂₄H₃₃N₅O₄

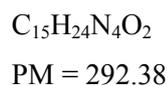
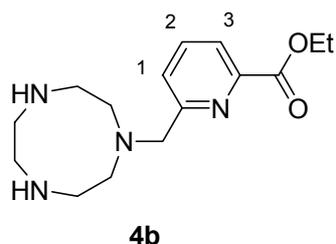
PM = 455.55

RMN ¹H (CD₃CN, 400 MHz, 298K): δ=1.35 (t, J = 7.0 Hz, 6H, COOCH₂CH₃), 2.70 (s, 4H, N(CH₂)₂N), 2.83 (t, J = 5.2Hz, 4H, N(CH₂)₂N), 2.92 (t, J = 5.2 Hz, 4H, N(CH₂)₂N), 3.92 (s, 4H, NCH₂py), 4.38 (q, J = 7.0 Hz, 4H, COOCH₂CH₃), 7.60 (d, J = 7.6 Hz, 2H, H₁), 7.75 (t, J = 7.6 Hz, 2H, H₂), 7.92 (d, J = 7.6 Hz, 2H, H₃).

RMN ¹³C (CD₃CN, 100 MHz, 298 K): δ=14.51 (C primaire), 47.26, 52.15, 53.54, 62.37, 62.84 (C secondaire), 124.20, 127.29, 138.46 (C tertiaire), 148.43, 161.71, 166.14 (C quaternaire).

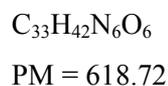
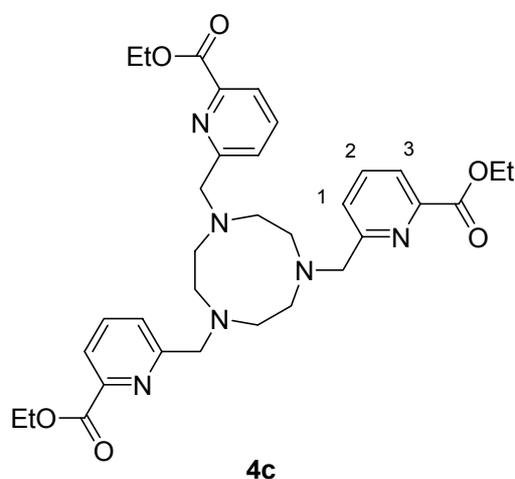
ES-MS: m/z: 456.3 [M + H]⁺.

On isole aussi le dérivé le mono-substitué **4b** (0.052 g, 18%) et le tri-substitué (0.011 g, 5%) sous la forme d'une huile jaune pâle (0.057g, 19%). Le rendement global de la réaction est de 85% par rapport au dérivé chloré **3**.



RMN 1H (CD_3OD , 200 MHz, 298K): $\delta=1.43$ (t, $J = 7.0$ Hz, 3H, $COOCH_2CH_3$), 2.84 (s, 8H, $N(CH_2)_2N$), 3.06 (s, 4H, $N(CH_2)_2N$), 4.10 (s, 2H, CH_2py), 4.46 (q, $J = 7.0$ Hz, 2H, $COOCH_2CH_3$), 7.60 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H, H_1), 7.96 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H, H_2), 8.08 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H, H_3).

ES-MS: m/z (%): 293.3 (100) $[M + H]^+$, 315.3 (20) $[M + Na]^+$.



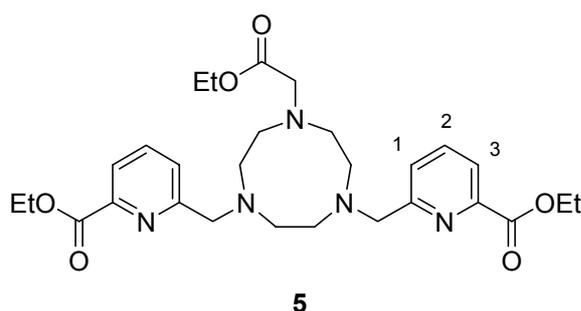
RMN 1H (CD_3CN , 400 MHz, 298K): $\delta=1.38$ (t, $J = 7.0$ Hz, 9H, $COOCH_2CH_3$), 2.88 (s, 12H, $N(CH_2)_2N$), 3.85 (s, 6H, CH_2py), 4.38 (q, $J = 7.0$ Hz, 6H, $COOCH_2CH_3$), 7.75 (d, $J = 7.6$ Hz, 3H, H_1), 7.86 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H, H_2), 7.94 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H, H_3).

ES-MS: m/z (%): 619 (100) $[M + H]^+$, 641 (20) $[M + Na]^+$.

Le triazacyclononane en excès, séparé par filtration du brut réactionnel est ensuite recyclé. Pour cela, le résidu solide (0.064 g) est solubilisé dans de l'eau milliQ (5 mL) puis une solution aqueuse d'HCl 1M (1.8 mL) est ajoutée. Le mélange est agité pendant 1 h à température ambiante puis concentré à sec. Le solide est lavé à l'éthanol et à l'éther. On obtient un solide blanc (0.062g) correspondant au tacn.3HCl.

- **1-carbethoxymethyl-4,7-bis[(6-carbethoxypyridin-2-yl)methyl]-1,4,7-triazacyclononane (5)**

Sous argon, on ajoute successivement du chloroacétate d'éthyle (0.255 g, 2.08 mmol) et du K_2CO_3 (0.288 g, 2.08 mmol) à une solution de **4a** (0.860 g, 1.89 mmol) dans l'acétonitrile anhydre (60 mL). Le mélange réactionnel est porté à reflux pendant une nuit. Après filtration sur fritté P3 et évaporation du solvant (20mmHg), le produit brut obtenu est purifié par chromatographie flash sur colonne d'alumine activité III (90 g, $CH_2Cl_2/EtOH$ 100/0 à 98/2). On obtient une huile jaune correspondant au composé **5** (0.568 g, 56%).



$$C_{28}H_{39}N_5O_6$$

$$PM = 541.65$$

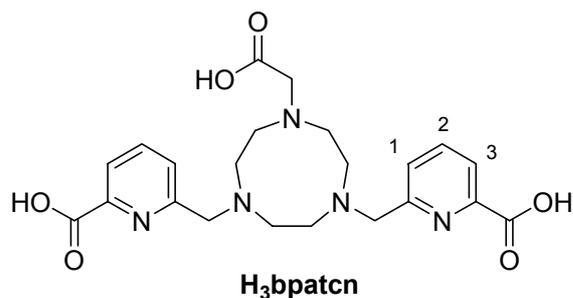
RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$, 298 K): δ =1.29 (t, J = 6.8 Hz, 3H, $CH_2COOCH_2CH_3$), 1.46 (t, J = 7.2 Hz, 6H, $pyCOOCH_2CH_3$), 2.91 (s, 4H, $N(CH_2)_2N$), 2.95 (s, 8H, $N(CH_2)_2N$), 3.44 (s, 2H, CH_2COOEt), 4.01 (s, 4H, NCH_2py), 4.18 (q, J = 6.8 Hz, J = 7.0 Hz, 2H, $CH_2COOCH_2CH_3$), 4.50 (q, J = 7.2 Hz, 4H, $pyCOOCH_2CH_3$), 7.83 (m, 4H, CH), 8.01 (t, J = 7.8 Hz, 2H, CH).

RMN ^{13}C (CD_3CN , 100 MHz, 298 K): δ =14.54, 14.60 (C primaire), 55.29, 56.30, 60.82, 62.25 (C secondaire), 124.11, 127.38, 138.34 (C tertiaire), 148.50, 166.19, 172.80 (C quaternaire).

ES-MS: m/z (%): 542.3 (100) $[M + H]^+$, 564.3 (20) $[M + Na]^+$.

- **1-carboxymethyl-4,7-bis[(6-carboxypyridin-2-yl)methyl]-1,4,7-triazacyclononane ($H_3bpatcn$)**

A une solution de **5** (0.298 g, 0.550 mmol) dans l'éthanol (10 mL), on ajoute une solution aqueuse de KOH 1M (6.5 mL). Le mélange réactionnel est porté à reflux pendant une nuit. Après évaporation du solvant (20 mmHg), l'huile jaune ainsi obtenue est dissoute dans de l'eau milliQ (~2.5 mL) et le pH est ajusté à 1.5 par ajout d'une solution aqueuse d'HCl 1.2 M. L'évaporation lente de cette solution donne des cristaux blancs de ligand $H_3bpatcn$. 2.5 KCl. 2 HCl. 4 H_2O (0.310 g, 71%).

C₂₂H₂₇N₅O₆

PM = 457.49

RMN ¹H (400 MHz, D₂O, 298 K, pD 6.4): δ=3.53 (s, 8H, N(CH₂)₂N), 3.58 (s, 4H, N(CH₂)₂N), 3.83 (s, 2H, CH₂COOH), 4.50 (s, 4H, NCH₂py), 7.58 (d, J = 7.6 Hz, 2H, H₁), 7.86 (d, J = 7.6 Hz, 2H, H₂), 7.96 (t, J = 7.6 Hz, 2H, H₃).

RMN ¹³C (D₂O, 100 MHz, 298 K): δ= 50.55, 50.98, 51.08, 57.97, 59.03 (C secondaire), 125.18, 127.36, 140.66 (C tertiaire), 146.42, 153.50, 166.87, 170.51 (C quaternaire).

ES-MS : m/z (%): 458.2 (100) [M + H]⁺, 496.2 (20) [M + K]⁺.

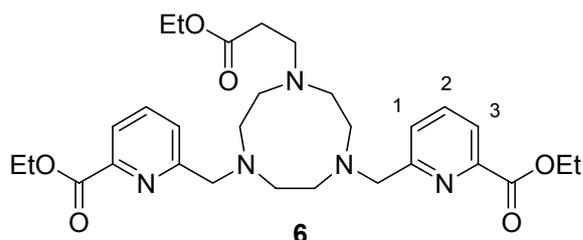
Analyse élémentaire calculée (%) pour C₂₂H₂₇N₅O₆. 2.5 KCl. 2 HCl. 4 H₂O (788.85) : C 33.49, H 4.73, N 8.88; expérimentale : C 33.49, H 4.72, N 8.77.

La teneur composition chimique a été confirmée par potentiométrie.

II.2. Ligand H₃ebpatcn

- 1-carbethoxyethyl-4,7-bis[(6-carbomethoxy-2-pyridin-2-yl)methyl]-1,4,7-triazacyclononane (6)

Sous argon, on ajoute successivement du chloropropionate d'éthyle (0.129 g, 0.94 mmol) et de la triéthylamine fraîchement distillée sur KOH (0.221 mL, 1.57 mmol) à une solution de **4a** (0.358 g, 0.79 mmol) dans l'acétonitrile anhydre (2 mL). Le mélange réactionnel est agité durant 30 minutes à température ambiante puis porté à reflux pendant une nuit. Le brut réactionnel est ensuite concentré à sec (20 mmHg) puis dissout dans du CH₂Cl₂ (10 mL). Le brut réactionnel est lavé à l'eau milliQ (10 mL), la phase aqueuse est extraite 6 fois au CH₂Cl₂, puis la phase organique est séchée sur Na₂SO₄ anhydre et évaporée à sec (20 mmHg). Le produit brut obtenu est purifié par chromatographie flash sur colonne d'alumine activité III (65 g, CH₂Cl₂/EtOH 100/0 à 95/5). On obtient une huile jaune correspondant au composé **6** (0.197 g, 45%).

C₂₉H₄₁N₅O₆

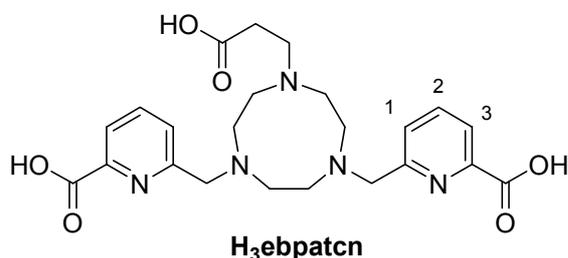
PM = 555.67

RMN ¹H (400 MHz, CD₃CN, 298 K): δ=1.20 (t, J = 7.0 Hz, 3H, (CH₂)₂COOCH₂CH₃), 1.35 (t, J = 7.2 Hz, 6H, pyCOOCH₂CH₃), 2.38 (t, J = 6.6 Hz, 2H, CH₂CH₂COOEt), 2.71 (d, J = 4.4 Hz, 4H, N(CH₂)₂N), 2.76 (t, J = 6.6 Hz, 2H, CH₂CH₂COOEt), 2.80 (d, J = 4.4 Hz, 4H, N(CH₂)₂N), 2.84 (s, 4H, N(CH₂)₂N), 3.83 (s, 4H, NCH₂py), 4.07 (q, J = 7.0 Hz, 2H, (CH₂)₂COOCH₂CH₃), 4.36 (q, J = 7.2 Hz, 4H, pyCOOCH₂CH₃), 7.74 (d, J = 7.6 Hz, 2H, H₁), 7.85 (t, J = 7.6 Hz, 2H, H₂), 7.92 (d, J = 7.6 Hz, 2H, H₃).

ES-MS: m/z (%): 556.3 (100) [M + H]⁺, 578.3 (30) [M + Na]⁺.

- **1-carboxyethyl-4,7-bis[(6-carboxypyridin-2-yl)methyl]-1,4,7-triazacyclononane (H₃ebpatcn)**

A une solution de **6** (0.190 g, 0.34 mmol) dans l'éthanol (5 mL), on ajoute une solution aqueuse de KOH 1M (2.2 mL). Le mélange réactionnel est porté à reflux pendant une nuit. Après évaporation du solvant (20 mmHg), l'huile jaune ainsi obtenue est dissoute dans de l'eau milliQ (~3 mL) et le pH est ajusté à 1.9 par ajout d'une solution aqueuse d'HCl 1.2 M. Les sels sont éliminés par lavages successifs à l'éthanol anhydre puis le produit obtenu est purifié par HPLC sur une colonne purossphère RP 18(L = 250 mm, Ø = 50 mm et p = 10 µm) avec un gradient H₂O/CH₃CN/TFA (voir § I.). On obtient un solide blanc correspondant au ligand H₃ebpatcn. 3 CF₃COOH. 0.6 H₂O (0.109 g, 39%).

C₂₃H₂₉N₅O₆

PM = 471.51

RMN ¹H (400 MHz, D₂O, 298 K, pD 2.4): δ=2.68 (t, J = 6.6 Hz, 2H, CH₂CH₂COOH), 3.57 (s, 4H, N(CH₂)₂N), 3.64 (t, J = 6.6 Hz, 2H, CH₂CH₂COOH), 3.67 (d, J = 4.4 Hz, 4H, N(CH₂)₂N), 3.71 (d, J = 4.4 Hz, 4H, N(CH₂)₂N), 4.53 (s, 4H, NCH₂py), 7.63 (d, J = 7.6 Hz, 2H, H₁), 7.95 (t, J = 7.6 Hz, 2H, H₂), 8.06 (d, J = 7.6 Hz, 2H, H₃).

ES-MS : m/z (%): 472.14 (100) [M + H]⁺.

Analyse élémentaire calculée (%) pour $C_{23}H_{29}N_5O_6 \cdot 3 CF_3COOH \cdot 0.6 H_2O$ (824.38) : C 42.25, H 4.06, N 8.50; expérimentale : C 42.15, H 4.26, N 8.61.

La pureté a été confirmée par dosage RMN 1H en présence d'acétate de sodium et de méthanesulfonate de sodium comme références.

II.3. Ligand $H_4pbpatcn$

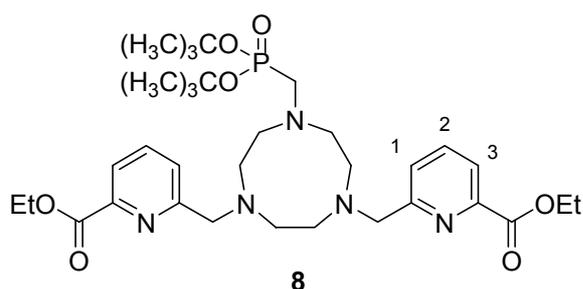
- *Tri-ter-butyl phosphite (7)*

Le tri-*ter*-butyl phosphite a été synthétisé selon une procédure décrite par H.C. Manning et al.^[2] On mélange sous argon du *ter*-butanol (0.925 g, 12.48 mmol) et de la triéthylamine (1.93 mL, 13.73 mmol) dans de l'éther anhydre à 0°C. Une solution de trichlorure de phosphore (0.571 g, 4.16 mmol) dans l'éther anhydre (6 mL) est ajoutée goutte à goutte. La température du mélange réactionnel est maintenue en dessous de 5°C avec un mélange eau/glace/NaCl. Le mélange est ensuite agité pendant 1h à 2-5°C puis 12h à température ambiante. Après filtration sur fritté P4 et évaporation du solvant (20mmHg), on obtient une huile jaune qui est recristallisée dans le *n*-hexane pour donner le composé **7** (0.957 g, 92%) sous forme d'aiguilles incolores.

RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$, 298 K): $\delta=1.47$ (s, 9H, $OC(CH_3)_3$).

- *1-(di-ter-butoxy-phosphoryl-methyl)-4,7-bis[(6-carbethoxypyridin-2-yl)methyl]-1,4,7-triazacyclononane (8)*

Sous argon, on ajoute du paraformaldéhyde (0.198 g, 6.58 mmol) à une solution de **4a** (0.377 g, 0.83 mmol) dans le THF anhydre fraîchement distillé (20 mL). Le mélange réactionnel est agité pendant 2h à température ambiante. On ajoute ensuite le tri-*ter*-butyl phosphite **7** (0.166 g, 0.66 mmol) et le mélange est chauffé à 50°C. La réaction est suivie par CCM ($CH_2Cl_2/EtOH$ 98/2). Après 2 jours, comme la réaction n'est pas complète, on ajoute à nouveau du paraformaldéhyde (0.058 g, 0.13 mmol). La réaction est stoppée après 3 jours à 50°C. Après évaporation du solvant (20 mmHg), le produit brut obtenu est purifié par chromatographie flash sur colonne d'alumine activité III (100 g, $CH_2Cl_2/EtOH$ 100/0 à 95/5). On obtient une huile jaune pâle qui cristallise à température ambiante correspondant au composé **8** (0.378 g, 69%).



$C_{33}H_{52}N_5O_7P$

PM = 661.77

RMN ¹H (400 MHz, CD₃CN, 298 K): δ=1.38 (t, J = 7.2 Hz, 6H, COOCH₂CH₃), 1.47 (s, 18H, OC(CH₃)₃), 2.80 (d, J = 8.8 Hz, 2H, CH₂PO(OtBu)₂), 2.88 (s, 8H, N(CH₂)₂N), 2.96 (s, 4H, N(CH₂)₂N), 3.87 (s, 4H, CH₂py), 4.38 (q, J = 7.2 Hz, 4H, COOCH₂CH₃), 7.77 (d, J = 7.6 Hz, 2H, H₁), 7.88 (t, J = 7.6 Hz, 2H, H₂), 7.95 (d, J = 7.6 Hz, 2H, H₃).

ES-MS: m/z (%): 662.21 (100) [M + H]⁺.

- **1,4,7-triazacyclononane-4,7-bis[(6-carboxypyridin-2-yl)methyl]-1-methylphosphonic acid (H₄pbpatcn)**

Deux étapes de déprotection sont réalisées successivement.

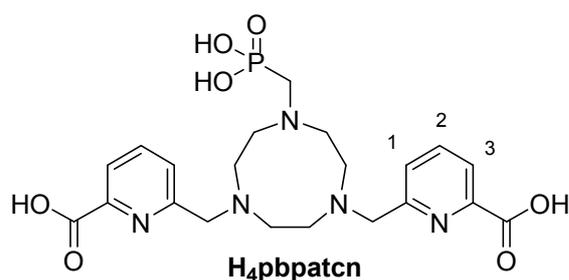
1) Saponification des esters éthyliques :

Sous argon, à une solution du composé **8** (0.282 g, 0.43 mmol) dans l'éthanol (7 ml), on ajoute une solution aqueuse de KOH 1M (0.94 mmol). Le mélange est agité à reflux pendant 4 jours puis le brut réactionnel est évaporé à sec (20 mmHg).

2) Hydrolyse des esters *ter*-butyliques :

Le brut obtenu est ensuite dissout dans l'acide trifluoroacétique (TFA) pur (6 mL). Le mélange est ensuite agité pendant 3h à température ambiante puis le TFA est évaporé (20 mmHg). Les sels sont éliminés par chromatographie flash sur colonne RP 18 (50 g, H₂O/CH₃CN/TFA 90/10/0.1) puis le produit obtenu est purifié par HPLC sur une colonne purossphère RP 18(L = 250 mm, Ø = 50 mm et p = 10 µm) avec un gradient H₂O/CH₃CN/TFA (voir § I.)

On obtient un solide blanc correspondant au ligand H₄pbpatcn. 2.7 CF₃COOH. 0.9 H₂O (0.126 g, 36%).



C₂₁H₂₈N₅O₇P

PM = 493.45

RMN ¹H (400 MHz, D₂O, 298 K, pD 2.2): δ=3.43 (d, J = 12.0 Hz, 2H, CH₂PO(OH)₂), 3.71 (s, 8H, N(CH₂)₂N), 3.88 (s, 4H, N(CH₂)₂N), 4.59 (s, 4H, CH₂py), 7.61 (d, J = 7.6 Hz, 2H, H₁), 7.92 (d, J = 7.6 Hz, 2H, H₃), 8.01 (t, J = 7.6 Hz, 2H, H₂).

ES-MS : m/z (%): 494.10 (100) [M + H]⁺.

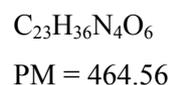
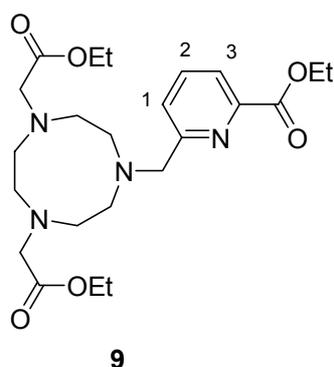
Analyse élémentaire calculée (%) pour C₂₁H₂₈N₅O₇P. 2.7 CF₃COOH. 0.9 H₂O (817.52) : C 38.79, H 4.01, N 8.57; expérimentale : C 38.77, H 4.14, N 8.55.

La formulation a été confirmée par potentiométrie.

II.4. Ligand *H₃mpatcn*

- **1,4-bis-carbethoxymethyl-7-[(6-carbethoxypyridin-2-yl)methyl]-1,4,7-triazacyclononane (9)**

Sous argon, on ajoute successivement du chloroacétate d'éthyle (0.352 g, 2.86 mmol) et du K_2CO_3 (0.396 g, 2.87 mmol) à une solution de 1-(6-carbethoxypyridin-2-yl)méthyl]-1,4,7-triazacyclononane **4b** (0.381 g, 1.30 mmol) dans l'acétonitrile anhydre (50 mL). Le mélange réactionnel est agité 1h à température ambiante puis porté à reflux pendant une nuit. Après filtration sur fritté P3 et évaporation du solvant, le produit brut obtenu est purifié par chromatographie flash sur colonne d'alumine activité III (90 mL, CH_2Cl_2 /EtOH 100 à 95/5). On obtient le composé **9** sous la forme d'une huile jaune (0.283 g, 47%).



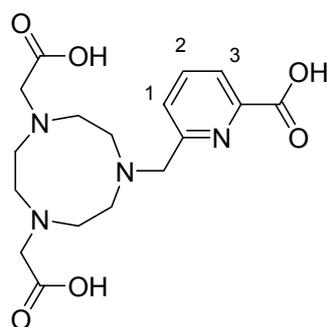
RMN ¹H (200 MHz, CD_3CN , 298 K): δ =1.20 (t, J = 7.2 Hz, 6H, $CH_2COOCH_2CH_3$), 1.36 (t, J = 7.4 Hz, 3H, $pyCOOCH_2CH_3$), 2.82 (s, 8H, $N(CH_2)_2N$), 2.84 (s, 4H, $N(CH_2)_2N$), 3.37 (s, 4H, CH_2COOEt), 3.87 (s, 2H, NCH_2py), 4.09 (q, J = 7.2 Hz, 2H, $CH_2COOCH_2CH_3$), 4.36 (q, J = 7.4 Hz, 4H, $pyCOOCH_2CH_3$), 7.86 (m, 3H, CH).

ES-MS: m/z (%): 465.3 (100) $[M + H]^+$, 487.4 (45) $[M + Na]^+$.

- **1,4-bis-carboxymethyl-7-[(6-carboxypyridin-2-yl)methyl]-1,4,7-triazacyclononane (*H₃mpatcn*)**

Le composé **9** (0.504 g, 1.09 mmol) est dissout dans une solution aqueuse d'HCl 6M (50 mL). Le mélange réactionnel est porté à reflux pendant une nuit. Après évaporation du solvant, l'huile jaune obtenue est dissoute dans de l'eau milliQ (~1.5 mL) et le pH est ajusté à pH 1.22 avec une solution aqueuse de KOH 1M. Les sels sont éliminés par chromatographie flash sur colonne RP 18 (50 g,

H₂O/CH₃CN/TFA 90/10/0.1) puis le produit est purifié par HPLC (voir § III.). On obtient un solide blanc correspondant au ligand H₃mpatcn. 2.7 CF₃COOH, 0.3 H₂O (0.267 g, 35%).



H₃mpatcn

C₁₇H₂₄N₄O₆

PM = 380.4

RMN ¹H (400 MHz, D₂O, 298 K, pD = 2.2): δ=3.29 (m, 4H, N(CH₂)₂N), 3.37 (m, 4H, N(CH₂)₂N), 3.50 (s, 4H, N(CH₂)₂N), 3.93 (s, 4H, CH₂COOH), 4.51 (s, 2H, NCH₂py), 7.97 (d, J = 7.6 Hz, 1H, H₁), 8.25 (d, J = 7.6 Hz, 1H, H₃), 8.31 (t, J = 7.6 Hz, 1H, H₂).

ES-MS : m/z (%): 481.3 (100) [M + H]⁺.

Analyse élémentaire calculée (%) pour C₁₇H₂₄N₄O₆ · 2.7 CF₃COOH · 0.3 H₂O (693.66) : C 38.79, H 3.97, N 8.08; expérimentale : C 38.52, H 4.22, N 8.00.

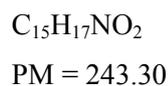
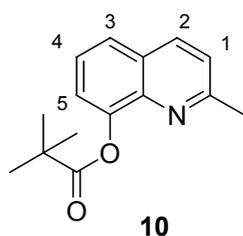
La synthèse a été répétée 2 fois. La formulation a été confirmée soit par dosage RMN ¹H en présence d'acétate de sodium et de méthanesulfonate de sodium comme références et/ou par potentiométrie selon les lots utilisés.

II.5. Ligand H₃thqtcn

Le ligand H₃thqtcn a été synthétisé en 4 étapes à partir de la 8-hydroxy-2-méthylquinoline commerciale selon la procédure décrite par J. P. Cross et P. G. Sammes.^[3] Cependant, pour une synthèse plus propre afin d'en améliorer le rendement global, la méthode de purification du dérivé bromé a été modifiée, de même que la méthode de déprotection.

- 8-(2,2-Dimethylpropanoyloxy)-2-méthylquinoline (10)

Sous argon, on ajoute de la triéthylamine fraîchement distillée sur KOH (11.8 mL, 83.34 mmol) à une solution de 8-hydroxy-2-méthylquinoline (8.293 g, 52.09 mmol) dans du dichlorométhane anhydre (100 mL) à 0°C. Sous agitation, toujours à 0°C, on ajoute goutte à goutte le chlorure de pivaloyl sur 20 min (7.1 mL, 57.30 mmol). Le mélange est ensuite agité à température ambiante pendant 72h. 40 mL d'eau sont ajoutés au mélange et la phase organique est séparée après décantation. Celle-ci est ensuite lavée avec une solution NaOH 2M (40 mL) puis séchée avec Na₂SO₄ anhydre et évaporée à sec (20 mmHg) pour donner une huile marron. Après cristallisation dans l'hexane à 5°C, filtration et rinçage au cyclohexane à 0°C, on obtient l'ester désiré **10** sous la forme d'un solide blanc (9.456 g, 75%).



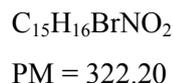
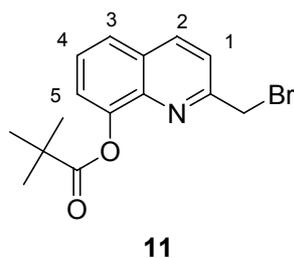
RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz, 298 K): δ=1.52 (s, 9H, C(CH₃)₃), 2.68 (s, 3H, CH₃), 7.27 (d, J = 8.4 Hz, 1H, H₁), 7.36 (dd, J₁ = 7.6 Hz, J₂ = 1.2 Hz, 1H, H₃), 7.47 (t, J = 8.4 Hz, 1H, H₄), 7.64 (dd, J₁ = 7.6 Hz, J₂ = 1.2 Hz, 1H, H₅), 8.02 (d, J = 8.4 Hz, 1H, H₂).

ES-MS *m/z* (%): 244.13 (100) [M + H]⁺.

- **8-(2,2-Dimethylpropanoyloxy)-2-bromomethylquinoline (11)**

A une solution d'ester pivaloïque **10** (9.383 g, 38.56 mmol) et de N-bromosuccinimide (7.756 g, 43.57 mmol) dans le tétrachlorure de carbone (100 mL) sous atmosphère d'argon, on ajoute une quantité catalytique de peroxyde de benzoyle (0.191 g, 0.79 mmol). Le mélange est ensuite porté à reflux. La réaction est suivie par CCM : la formation du produit monobromé **11** souhaité et du composé dibromé 8-(2,2-dimethylpropanoyloxy)-2,2-dibromomethylquinoline comme produit secondaire est observée. Compte tenu du faible avancement de la réaction, du peroxyde de benzoyle (0.029 g, 0.12 mmol) est ajouté après 5h de reflux, puis un nouvel ajout (0.096 g, 0.40 mmol) est réalisé après 21h. Après 28h de réaction, le mélange réactionnel est refroidi, filtré sur fritté P4 puis évaporé à sec (20 mmHg) pour obtenir un solide marron. Le produit brut obtenu est purifié par fractions de 5 g par chromatographie sur colonne de silice (68 mL/1g de brut, toluène 100) pour donner le dérivé monobromé **11** sous la forme d'un solide blanc cristallin (3.791 g, 30%).

!! Le tétrachlorure de carbone est toxique Sa manipulation requiert des précautions particulières : mettre deux paires de gants, évaporer sous la hotte avec un piège refroidi dans l'azote liquide et collecter les déchets dans un flacon prévu à cet effet !!

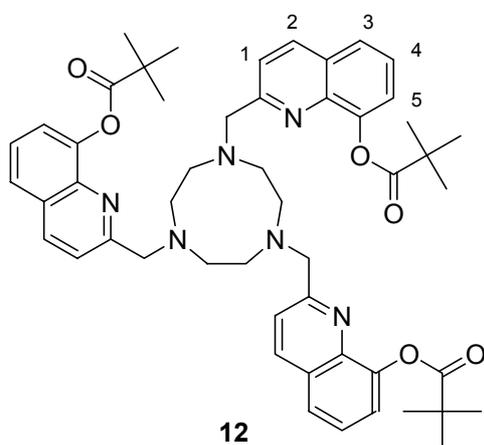


RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz, 298 K): δ=1.52 (s, 9H, C(CH₃)₃), 4.64 (s, 2H, CH₂Br), 7.41 (dd, J₁ = 7.2 Hz, J₂ = 1.2 Hz, 1H, H₁), 7.52 (t, J = 8.4 Hz, 1H, H₄), 7.57 (d, J = 8.4 Hz, 1H, H₃), 7.68 (d, J = 8.4 Hz, 1H, H₅), 8.16 (d, J = 8.4 Hz, 1H, H₂).

ES-MS *m/z* (%): 322.04 (100) [M + H]⁺.

- **1,4,7-Tris-[2-(8-(2,2-dimethylpropanoyloxy)quinoliny)methyl]-1,4,7-triazacyclononane (12)**

A une solution de dérivé monobromé **11** (2.732 g, 8.48 mmol) et de 1,4,7-triazacyclononane Tris-HCl (0.613 g, 2.57 mmol) dans l'acétonitrile anhydre (20 mL) sous atmosphère d'argon, on ajoute de la triéthylamine fraîchement distillée sur KOH (2.46 mL, 17.47 mmol). Le mélange est agité à température ambiante pendant 3.5 jours puis évaporé à sec (20 mmHg). Le produit brut est dissout dans CH₂Cl₂ (80 mL). La phase organique est lavée avec de l'eau milliQ (40 mL) puis avec une solution de NaHCO₃ 10% m/v. La phase aqueuse est ensuite re-extraite avec du CH₂Cl₂ (40 mL). Les phases organiques sont rassemblées, séchées sur Na₂SO₄ anhydre et concentrées à sec (20 mmHg) pour obtenir un solide jaune. Ce produit brut est purifié par chromatographie sur colonne de silice (300 mL, CH₂Cl₂/MeOH 90/10 à 80/20) pour donner le produit désiré **12** sous la forme d'un solide jaune très pâle (1.423 g, 65%).



C₅₁H₆₀N₆O₆

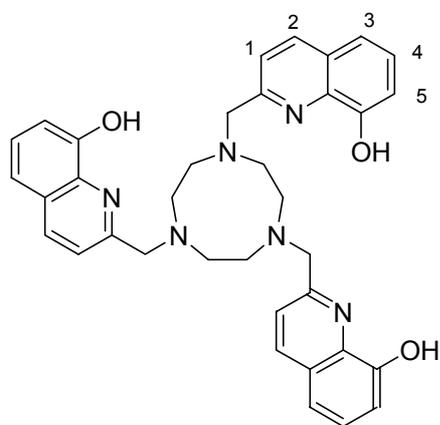
PM = 853.06

RMN ¹H (CDCl₃, 200 MHz, 298 K): δ=1.43 (s, 27H, C(CH₃)₃), 3.06-3.28 (m, 12H, N(CH₂)₂N), 4.06 (s, 6H, N(CH₂)qui), 7.41 (dd, J₁ = 7.4 Hz, J₂ = 1.2 Hz, 3H, H₁), 7.56 (t, J = 7.4 Hz, 3H, H₄), 7.76 (dd, J₁ = 7.4 Hz, J₂ = 1.2 Hz, 3H, H₃), 7.73 (dd, J₁ = 7.4 Hz, J₂ = 1.2 Hz, 3H, H₅), 7.79 (d, J = 7.4 Hz, 3H, H₂).

ES-MS *m/z* (%): 853.4 (100) [M + H]⁺.

- **1,4,7-Tris-[2-(8-hydroxyquinolinyl)methyl]-1,4,7-triazacyclononane (*H₃thqtcn*)**

A une solution aqueuse de KOH 1.23 M (10 mL, 12.35 mmol) sous atmosphère d'argon, on ajoute une solution de l'ester **12** précédemment obtenu (1.171 g, 1.37 mmol) dans du THF préalablement dégazé (30 mL). Le mélange réactionnel est agité à température ambiante pendant 6 jours puis neutralisé (pH = 7) par ajout d'une solution de HCl 1N (~ 6mL). Le mélange est ensuite extrait avec de l'acétate d'éthyle (75 mL), la phase organique lavée avec une solution saturée de NaHCO₃ (5 × 15 mL) puis avec une solution saturée de NaCl (5 × 15 mL). La phase organique est séchée sur Na₂SO₄, filtrée puis concentrée à sec (20 mmHg). Le résidu obtenu est trituré avec de l'éther pour donner *H₃thqtcn*. 0.5 H₂O 0.2 KCl sous la forme d'un solide jaune pâle (0.608 g, 71%).



H₃thqtcn

C₃₆H₃₆N₆O₃

PM = 600.72

RMN ¹H (D₂O, 400 MHz, 298 K, pD = 1.4): δ=3.55 (s, 12H, N(CH₂)₂N), 4.0 (s, 6H, N(CH₂)qui), 6.81 (d, J = 8.0 Hz, 3H, H₅), 7.21 (d, J = 8.0 Hz, 3H, H₃), 7.26 (t, J = 8.0 Hz, 3H, H₄), 7.44, (d, J = 8.8 Hz, 3H, H₁), 8.15 (d, J = 8.8 Hz, 3H, H₂).

ES-MS *m/z* (%): 601.3 (100) [M + H]⁺, 623.3 (7) [M + Na]⁺.

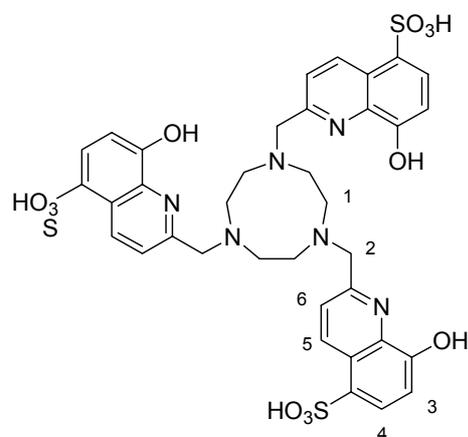
Analyse élémentaire calculée (%) pour C₃₆H₃₆N₆O₃ · 0.5H₂O · 0.2KCl (624.64): C 69.22, H 5.97, N 13.45; expérimentale : C 69.29, H 6.01, N 13.22%.

II.6. Ligand *H₆thqtcn-SO₃*

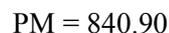
Le ligand *H₆thqtcn-SO₃* a été obtenu à partir du ligand *H₃thqtcn* par sulfonation dans l'oléum. Le mode opératoire utilisé est celui décrit par S. Comby et al.^[4]

Le ligand *H₃thqtcn* (0.104 g, 0.17 mmol) est placé dans un petit ballon (10 mL) et est recouvert avec un minimum d'oléum (H₂SO₄, SO₃, 20%) (1.5 mL). Le mélange est agité pendant une nuit à température ambiante puis renversé sur la glace. La solution est ensuite concentrée (20 mmHg) puis

dissoute dans 30 mL d'éthanol et placée au frigo. On observe la précipitation d'un solide jaune correspondant au ligand $H_6thqtcn-SO_3 \cdot 6 H_2O \cdot 0.3 H_2SO_4$ (0.134 g, 82%).



$H_6thqtcn-SO_3$



RMN 1H (D_2O , 400 MHz, 298 K, pD = 8.3): $\delta=2.95$ (s, 12H, $N(CH_2)_2N$), 3.85 (s, 6H, $N(CH_2)_{qui}$), 6.66 (d, $J = 7.6$ Hz, 3H, H_3), 7.60 (d, $J = 7.6$ Hz, 3H, H_4), 7.72 (t, $J = 7.6$ Hz, 3H, H_5), 8.75, (d, $J = 7.6$ Hz, 3H, H_6).

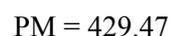
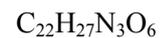
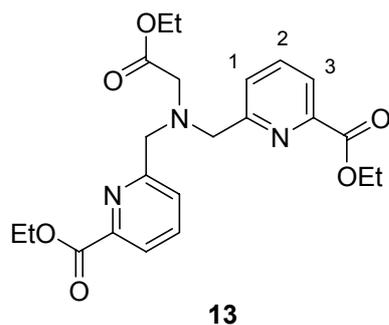
ES-MS m/z (%): 641.2 (100) $[M + H]^+$.

Analyse élémentaire calculée (%) pour $C_{36}H_{36}N_6O_{12}S_3 \cdot 6H_2O \cdot 0.3H_2SO_4$ (978.40): C 44.23, H 4.95, N 8.60; expérimentale : C 44.07, H 4.99, N 8.63%.

II.7. Ligand H_3dpaa

- *N,N'*-Bis [(6-carbethoxypyridin-2-yl)methyl]glycyl ethyl ester (13)

Sous argon, on ajoute successivement le dérivé chloré **3** (0.582 g, 2.93 mmol), du K_2CO_3 (0.618 g, 4.37 mmol) et du KI (0.488 g, 2.91 mmol) à une solution de glycine ethyl ester hydrochloride (0.169 g, 1.21 mmol) dans l'acétonitrile anhydre (20 mL). Le mélange réactionnel est agité 1 h à température ambiante puis chauffé à 60°C pendant 2 jours. Après filtration, le solvant est évaporé (20 mmHg) et le produit brut obtenu est dissout dans le chloroforme (100 mL) et lavé avec une solution de $NaHCO_3$ demi-saturée. La phase aqueuse est extraite avec $CHCl_3$ (2×50 mL) et la phase organique séchée avec Na_2SO_4 , filtrée et évaporée à sec (20 mmHg). L'huile jaune obtenue est ensuite purifiée par chromatographie sur colonne d'alumine activité III (75 g, $CH_2Cl_2/EtOH$ 100/0 à 95/5) pour donner **13** sous forme d'un solide jaune (0.301 g, 58%).

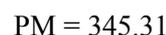
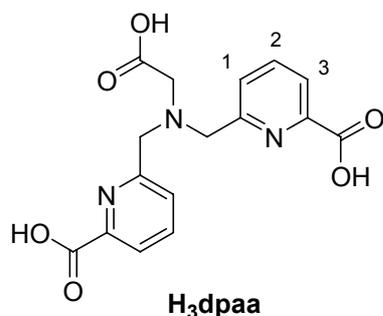


RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz, 298 K): $\delta=1.26$ (t, $J = 7.2$ Hz, 3H, $\text{CH}_2\text{COOCH}_2\text{CH}_3$), 1.43 (t, $J = 7.2$ Hz, 6H, $\text{pyCOOCH}_2\text{CH}_3$), 3.47 (s, 2H, CH_2COOEt), 4.08 (s, 4H, CH_2py), 4.16 (q, $J = 7.2$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{COOCH}_2\text{CH}_3$), 4.46 (q, 4H, $J = 7.2$ Hz, $\text{pyCOOCH}_2\text{CH}_3$), 7.83 (m, 4H, $\text{H}_1 + \text{H}_3$), 8.01 (t, $J = 4.8$ Hz, 2H, H_2).

ES-MS m/z (%): 452.3 (100) $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 430.3 (15) $[\text{M} + \text{H}]^+$.

- ***N,N'*-Bis [(6-carboxypyridin-2-yl)methyl]glycine (H_3dpaa)**

L'ester précédemment obtenu **13** (0.270g, 0.63 mmol) est dissout dans une solution aqueuse d'acide chlorhydrique 6M (40 mL). Le mélange est porté à reflux pendant 1 nuit. Le solvant est ensuite concentré à environ 3 mL et la solution est réfrigérée à 4°C pendant une nuit, donnant lieu à la précipitation d'un solide blanc. Le solide est filtré, lavé avec Et_2O et séché sous vide pour donner le ligand $\text{H}_3\text{dpaa} \cdot \text{HCl} \cdot 0.1\text{H}_2\text{O}$ (0.142 g, 59%).



RMN ^1H (D_2O , 400 MHz, 298 K, $\text{pD} = 4.7$): $\delta=3.94$ (s, 2H, CH_2COOH), 4.60 (s, 4H, CH_2py), 7.43 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H, H_1), 7.76 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H, H_3), 7.76 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H, H_2).

ES-MS m/z (%): 346.1 (100) $[\text{M} + \text{H}]^+$.

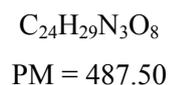
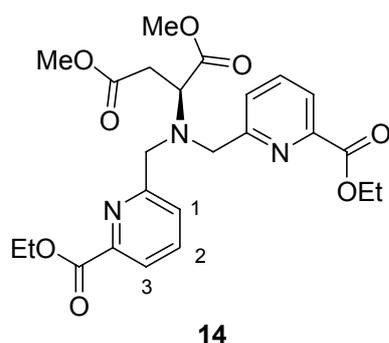
Analyse élémentaire calculée (%) pour $\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_6 \cdot \text{HCl} \cdot 0.1 \text{H}_2\text{O}$ (383.57): C 50.10, H 4.26, N 10.96; expérimentale : C 50.15, H 4.31, N 10.91%.

La formulation a été confirmée par potentiométrie.

II.8. Ligand H_4dpaba

- *N,N'*-Bis [((6-carbethoxypyridin-2-yl)methyl)-amino]-succinic acid dimethyl ester (**14**)

Sous argon, on ajoute successivement le dérivé chloré **3** (2.002 g, 10.00 mmol), du K_2CO_3 (2.103 g, 15.04 mmol) et du KI (2.583 g, 15.04 mmol) à une solution de L-aspartic acid dimethylester hydrochloride (0.798 g, 4.18 mmol) dans l'acétonitrile anhydre (30 mL). Le mélange réactionnel est agité pendant 3 jours à 60°C. Après filtration sur fritté P4, le solvant est évaporé (20 mmHg) et le produit brut obtenu est dissout dans le chloroforme (200 mL) puis lavé avec une solution de $NaHCO_3$ demi-saturée (200 mL). La phase aqueuse est extraite avec $CHCl_3$ (3×100 mL) et la phase organique séchée avec Na_2SO_4 , filtrée et évaporée à sec (20 mmHg). L'huile jaune-orangée obtenue est en suite purifiée par chromatographie sur colonne d'alumine activité III (100 mL, $CH_2Cl_2/EtOH$ 100/0 à 95/5) pour donner **14** sous la forme d'une huile jaune (1.594 g, 78%).

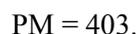
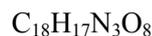
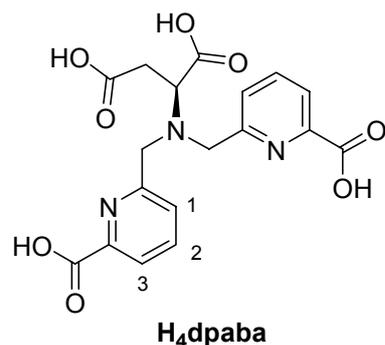


RMN 1H (CD_3CN , 200 MHz, 298 K): δ =1.35 (t, $J = 7.2$ Hz, 6H, $pyCOOCH_2CH_3$), 2.82 (m, 2H, CH_2COOCH_3), 3.55 (s, 3H, $COOCH_3$), 3.73 (s, 3H, $COOCH_3$), 3.91 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H, CH), 3.98 (s, 4H, CH_2py), 4.35 (q, $J = 7.2$ Hz, 4H, $pyCOOCH_2CH_3$), 7.66 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H, H_1), 7.80 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H, H_2), 7.88 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H, H_3).

ES-MS m/z (%): 488.1 (100) $[M + H]^+$, 510.3 (45) $[M + Na]^+$.

- *N,N'*-Bis [((6-carboxypyridin-2-yl)methyl)-amino]-succinic acid (H_4dpaba)

A une solution de **14** (1.062 g, 2.18 mmol) dans l'éthanol (40 mL), on ajoute une solution aqueuse de KOH 1M (9.6 mL). Le mélange réactionnel est porté à reflux pendant une nuit. Après évaporation du solvant (20 mmHg), l'huile jaune ainsi obtenue est dissoute dans de l'eau milliQ (~2.5 mL) et le pH est ajusté à 1.6 par ajout d'une solution aqueuse d'HCl 1 M. La solution est ensuite concentrée à environ 1.5 mL et réfrigérée à 4°C. L'évaporation lente de cette solution produit des cristaux blancs de ligand H_4dpaba . 0.2 KCl. 0.2 H_2O (0.280 g, 32%).



RMN ¹H (D₂O, 400 MHz, , 298 K, pD = 2.0): δ=2.67 (d, J = 7.2 Hz, 2H, CH₂COOH), 3.79 (t, J = 7.2 Hz, 1H, CH), δ_A = 3.95, δ_B = 4.08 (système AB, J_{AB} = 14.8 Hz, 4H, CH₂py), 7.55 (d, J = 7.6 Hz, 2H, H₁), 7.59 (d, J = 7.6 Hz, 2H, H₃), 7.67 (t, J = 7.6 Hz, 2H, H₂).

ES-MS *m/z* (%): 404.03 (100) [M + H]⁺.

Analyse élémentaire calculée (%) pour C₁₈H₁₇N₃O₈ · 0.2H₂O · 0.1KCl (414.40) : C 52.17, H 4.23, N 10.14; expérimentale : C 52.15, H 4.22, N 10.14%.

La composition a été confirmée par potentiométrie.

III. Synthèse des complexes de Ln(III)

III.1. Ligand *bpatcn*³⁻

- [Eu(*bpatcn*)(H₂O)]

Une solution de EuCl₃·6H₂O (0.13 mmol) dans l'eau milliQ (0.4 mL) est ajoutée à une solution aqueuse de H₃*bpatcn* (0.15 mmol dans 2 mL). Le pH du mélange est ajusté à pH = 7.5 par ajout d'une solution aqueuse de KOH 1M. Après évaporation à sec, le solide est suspendu dans 20 mL d'éthanol anhydre puis le mélange est réfrigéré à 4°C pendant une nuit. Les sels insolubles (KCl) sont ensuite éliminés par filtration. L'évaporation lente de la solution donne le complexe [Eu(*bpatcn*)] sous forme d'un solide blanc microcristallin (66.3 mg, 65%).

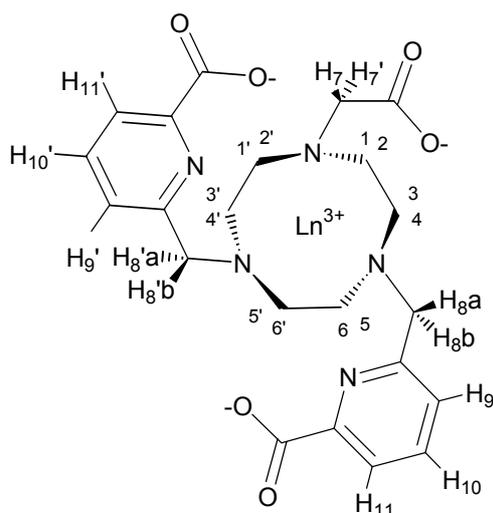
ES-MS *m/z* (%): 646.0 (100) {[Eu(*bpatcn*)]K}⁺, 949.1 (78) {[Eu(*bpatcn*)]₃K₂}²⁺, 1251.0 (75) {[Eu(*bpatcn*)]₂K}⁺.

Analyse élémentaire calculée (%) pour [Eu(*bpatcn*)]·4.5 H₂O·1.3 KCl : C 33.69, H 4.24, N 8.93; expérimentale : C33.54 et 33.72, H 4.25 et 4.36, N 8.86(%)

RMN ¹H à 70°C (D₂O, 400 MHz, 70°C, pD 9.1): δ=-11.97 (s, 1H, H₁/H₂), -10.26 (s, 1H, H₃/H₄), -7.26 (s, 1H, H₅/H₆), -4.79 (s, 1H, H₃/H₄), -3.30 (s, 1H, H₁/H₂), -3.16 (s, 1H, H₅/H₆), -0.84 (s, 1H, H_{8a}/H_{8b}), 0.45 (s, 1H, H₁/H₂), 0.52 (s, 1H, H₅/H₆), 0.52 (s, 1H, H₇/H₇), 0.86 (s, 1H, H₅/H₆), 2.26 (s, 1H,

H₃'/H₄'), 2.46 (s, 1H, H₃'/H₄'), 4.22 (s, 1H, H₇/H₇'), 4.35 (s, 1H, H_{8a}/H_{8b}), 5.19 (d, J = 7.2 Hz, 1H, H₁₁), 6.34 (d, J = 7.2 Hz, 1H, H₉), 7.29 (t, J = 7.6 Hz, 1H, H₁₀), 7.41 (d, J = 6.8 Hz, 1H, H₁₁'), 7.57 (s, 1H, H_{8a}/H_{8b}), 8.40 (d, J = 7.2 Hz, 1H, H₉'), 9.68 (t, J₁ = 7.2 Hz, J₂ = 7.6 Hz, 1H, H₁₀'), 11.07 (s, 1H, H_{8a}'/H_{8b}'), 16.75 (s, 1H, H₁'/H₂').

L'attribution des signaux a été obtenue à partir de l'interprétation simultanée des couplages scalaires (expérience COSY et irradiation sélective des pyridines) et de l'effet Overhauser (NOESY).



RMN ¹H à 5°C (D₂O, 400 MHz, 5°C, pD 9.1): δ=-15.61 (s, 1H, H₁/H₂), -13.83 (s, 1H, H₃/H₄), -9.65 (s, 1H, H₅/H₆), -7.73 (s, 1H, H₃/H₄), -5.82 (s, 1H, H₁/H₂), -5.56 (s, 1H, H₅/H₆), -0.92 (s, 1H, H_{8a}'/H_{8b}'), -0.37 (s, 1H, H₁'/H₂'), -0.37 (s, 1H, H₅'/H₆'), -0.09 (s, 2H, H₇/H₇'), 0.60 (s, 1H, H₅'/H₆'), 2.09 (s, 1H, H₃'/H₄'), 3.06 (s, 1H, H₃'/H₄'), 4.30 (s, 1H, H₇/H₇'), 4.71 (s, 1H, H_{8a}/H_{8b}), 5.89 (s, 1H, H₁₁), 6.41 (s, 1H, H₉), 7.22 (s, 1H, H₁₀), 7.59 (s, 1H, H₁₁'), 9.08 (s, 1H, H_{8a}/H_{8b}), 9.08 (s, 1H, H₉'), 9.22 (s, 1H, H₁₀'), 14.71 (s, 1H, H_{8a}'/H_{8b}'), 21.22 (s, 1H, H₁'/H₂').

L'attribution des signaux du spectre à 5°C a été réalisée en suivant le déplacement chimique des protons de 70°C à 5°C. Des spectres ont été enregistrés aux températures suivantes : 70, 65, 55, 45, 35, 25, 20, 15, 10 et 5°C.

- **[La(bpatcn)(H₂O)_x] et [Lu(bpatcn)(H₂O)_x]**

Les complexes [La(bpatcn)(H₂O)_x] et [Lu(bpatcn)(H₂O)_x] peuvent être isolés à l'état solide par une procédure identique. Cependant, ils ont été préparés *in situ* en dissolvant des quantités équimolaires de ligand et de sel de lanthanide La(OTf)₃ ou Lu(OTf)₃. Le pD a été ajusté par une solution de KOD dans D₂O (1M et/ou 0.1 M). Les valeurs de pD données sont corrigées par rapport aux effets isotopiques du deutérium.

[La(bpatcn)]

ES-MS *m/z* (%): 594.2 (100) {[La(bpatcn)]₂+2H}²⁺, 891.1 (28) {[La(bpatcn)]₃+2H}²⁺, 1187.2 (55) {[La(bpatcn)]₂+H}⁺.

RMN ^1H (D_2O , 400 MHz, 25°C, pD 7.1): $\delta=2.40$ (s, 2H, $(\text{CH}_2)\text{tcn}$), 2.82 (s, 2H, $(\text{CH}_2)\text{tcn}$), 3.02 (s, 8H, $(\text{CH}_2)\text{tcn}$), 3.35(s, 2H, H_7), 4.18 (s, 2H, $\text{H}_{8a}/\text{H}_{8b}$), 4.68 (d, $J = 14.8$ Hz, 2H $\text{H}_{8a}/\text{H}_{8b}$), 7.74 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H, H_9), 8.07 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H, H_{11}), 8.17 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H, H_{10}).

[Lu(bpatcn)]

ES-MS m/z (%): 668.2 (100) $\{[\text{Lu}(\text{bpatcn})]\text{K}\}^+$, 982.9 (18) $\{[\text{Lu}(\text{bpatcn})]_3\text{K}_2\}^{2+}$, 1297(18) $\{[\text{Eu}(\text{bpatcn})]_2\text{K}\}^+$.

RMN ^1H à 70°C (D_2O , 400 MHz, 70°C, pD 4.2): $\delta=1.48$ (t, 1H, $(\text{CH}_2)\text{tcn}$), 2.17 (t, 1H, $(\text{CH}_2)\text{tcn}$), 2.48 (dd, 1H, $(\text{CH}_2)\text{tcn}$), 2.62 (dd, 1H, $(\text{CH}_2)\text{tcn}$), 2.76 (t, 1H, $(\text{CH}_2)\text{tcn}$), 2.80 (t, 1H, $(\text{CH}_2)\text{tcn}$), 2.86 (d, 1H, $(\text{CH}_2)\text{tcn}$), 2.9 (d, 1H, $(\text{CH}_2)\text{tcn}$), $\delta_A = 3.79$, $\delta_B = 3.86$ (dd, $J_{AB} = 27$ Hz, 2H, H_7/H_7'), 3.45-3.56 (m, 4H, $(\text{CH}_2)\text{tcn}$), $\delta_A = 4.48$, $\delta_B = 4.58$ (dd, $J_{AB} = 14.6$ Hz, 2H, $\text{H}_{8a'}/\text{H}_{8b'}$), $\delta_A = 4.70$, $\delta_B = 4.90$ (dd, $J_{AB} = 15.0$ Hz, 2H, $\text{H}_{8a}/\text{H}_{8b}$), 7.71 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H, H_9), 7.80 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H, H_9), 8.03 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H, H_{11}), 8.09 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H, H_{11}'), 8.19 (t, $J = 7.2$ Hz, 1H, H_{10}), 8.21 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H, H_{10}).

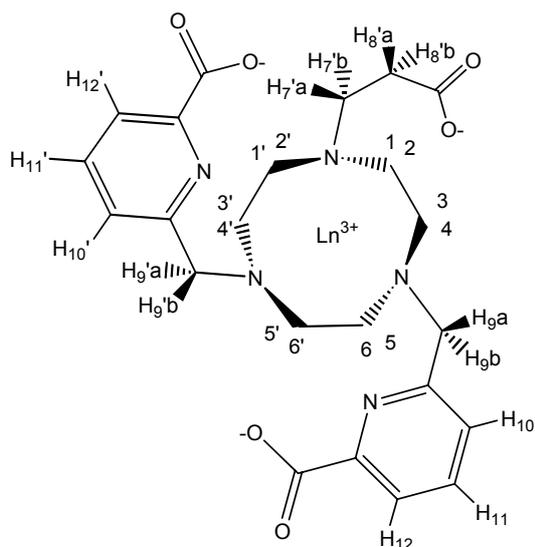
RMN ^1H à 25°C (D_2O , 400 MHz, 25°C, pD 4.2): $\delta=2.02$ (t, 1H, $(\text{CH}_2)\text{tcn}$), 2.21 (t, 1H, $(\text{CH}_2)\text{tcn}$), 2.50 (dd, 1H, $(\text{CH}_2)\text{tcn}$), 2.63 (dd, 1H, $(\text{CH}_2)\text{tcn}$), 2.77-2.84 (m, 3H, $(\text{CH}_2)\text{tcn}$), 2.92 (dd, 1H, $(\text{CH}_2)\text{tcn}$), $\delta_A = 3.33$, $\delta_B = 3.41$ (dd, $J_{AB} = 16.0$ Hz, 1H, H_7/H_7'), 3.44-3.59 (m, 4H, $(\text{CH}_2)\text{tcn}$), $\delta_A = 4.04$, $\delta_B = 4.15$ (dd, $J_{AB} = 14.8$ Hz, 2H, $\text{H}_{8a'}/\text{H}_{8b'}$), $\delta_A = 4.27$, $\delta_B = 4.46$ (dd, $J_{AB} = 14.8$ Hz, 2H, $\text{H}_{8a}/\text{H}_{8b}$), 7.72(d, $J = 7.4$ Hz, 1H, H_9), 7.81 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H, H_9), 8.03 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, H_{11}), 8.08 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, H_{11}'), 8.19 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H, H_{10}), 8.21 (t, $J = 7.8$ Hz, 1H, H_{10}).

III.2. Ligand *ebpatcn*³⁻

Les complexes $[\text{Ln}(\text{ebpatcn})]$ ($\text{Ln} = \text{Lu}, \text{La}, \text{Eu}$) pour les mesures de RMN ^1H en solution ont été préparés *in situ* en dissolvant des quantités équimolaires de ligand et de sel de lanthanide $\text{Ln}(\text{OTf})_3$ dans D_2O . Le pD a été ajusté par une solution de KOD dans D_2O (1M et/ou 0.1 M). Des concentrations de 2.10^{-2} M to 5.10^{-2} M ont été utilisées. Les valeurs de pD données sont corrigées par rapport aux effets isotopiques du deutérium.

- **[Eu(*ebpatcn*)(H_2O)]**

Seule l'attribution partielle des signaux du spectre du complexe $[\text{Eu}(\text{ebpatcn})(\text{H}_2\text{O})]$ a été réalisée. Elle a été obtenue à partir de l'interprétation simultanée des couplages scalaires (expérience COSY) et de l'effet Overhauser (NOESY) à 25°C et à 70°C. Cependant, l'absence de tâches d'échange ne nous permet pas de différencier avec certitude les protons des groupements éthylène du cycle triazacyclononane de ceux du bras propionate. Ils sont alors regroupés sous l'appellation « CH_2 » dans l'attribution ci-dessous.



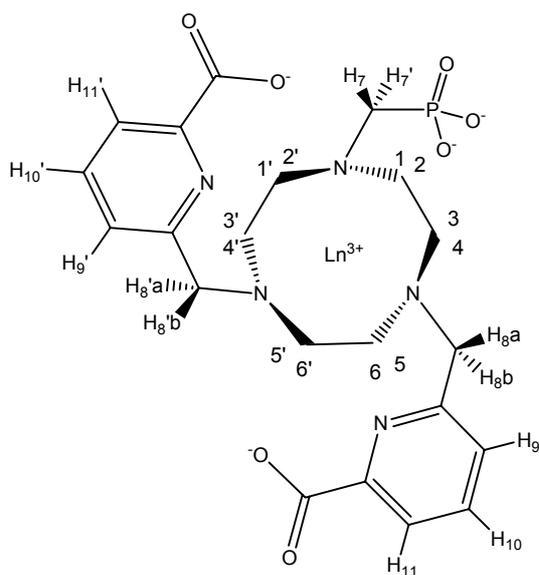
RMN ^1H à 70°C (D_2O , 400 MHz, 70°C , pD 7.4):
 $\delta = -12.28$ (s, 1H, CH_2), -9.34 (s, 1H, CH_2), -9.31 (s, 1H, CH_2), -5.12 (d, $J = 15.2$ Hz, 1H, CH_2), -2.39 (s, 1H, $\text{H}_{9a}/\text{H}_{9b}$), -2.20 (d, $J = 14.4$ Hz, 1H, CH_2), -1.82 (s, 1H, CH_2), -1.33 (d, $J = 13.2$ Hz, 1H, $\text{H}_{9a'}/\text{H}_{9b'}$), -0.52 (s, 1H, CH_2), -0.48 (s, 1H, $\text{H}_{9a'}/\text{H}_{9b'}$), -0.24 (d, $J = 18.8$ Hz, 1H, CH_2), 0.57 (s, 1H, CH_2), 0.60 (s, 1H, CH_2), 1.72 (s, 1H, CH_2), 3.22 (d, $J = 16.0$ Hz, 1H, CH_2), 5.37 (m, 1H, CH_2), 6.22 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H, H_{10}), 6.94 (m, 2H, $\text{H}_{12} + \text{H}_{12'}$), 7.12 (m, 3H, $\text{H}_{10'} + \text{H}_{9a}/\text{H}_{9b} + \text{CH}_2$), 7.73 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H, $\text{H}_{11}/\text{H}_{11'}$), 8.26 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H, $\text{H}_{11}/\text{H}_{11'}$), 8.91 (d, $J = 9.6$ Hz, 1H, CH_2), 24.81 (s, 1H, CH_2).

III.3. Ligand pbpatcn $^{4-}$

Les complexes de $[\text{Ln}(\text{pbpatcn})]^-$ ($\text{Ln} = \text{La}, \text{Eu}$) pour les mesures de RMN ^1H en solution ont été préparés *in situ* en dissolvant des quantités équimolaires de ligand et de sel de lanthanide $\text{Ln}(\text{OTf})_3$ dans D_2O . Le pD a été ajusté par une solution de NaOD dans D_2O (1M et/ou 0.1 M). Des concentrations de 2.10^{-2} M to 5.10^{-2} M ont été utilisées. Les valeurs de pD données sont corrigées par rapport aux effets isotopiques du deutérium.

Seulement l'attribution des signaux du spectre du complexe $[\text{Eu}(\text{pbpatcn})(\text{H}_2\text{O})]^-$ a été réalisée.

- $[\text{Eu}(\text{pbpatcn})(\text{H}_2\text{O})]^-$



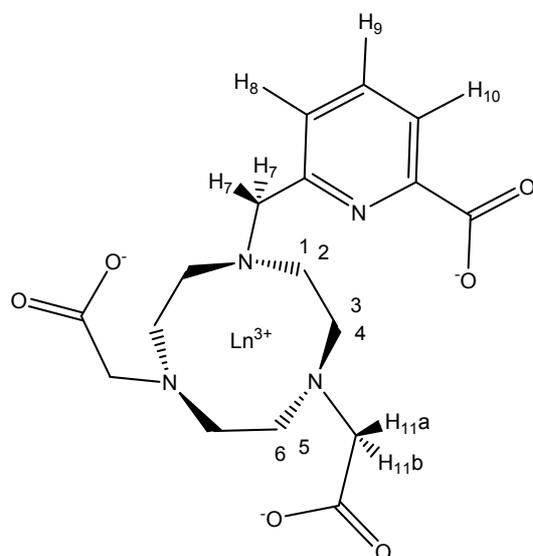
RMN ^1H à 70°C (D_2O , 400 MHz, 70°C , pD 5.5):
 $\delta = -11.07$ (s, 1H, $(\text{CH}_2)\text{tcn}$), -8.43 (s, 1H, $(\text{CH}_2)\text{tcn}$), -7.47 (s, 1H, $(\text{CH}_2)\text{tcn}$), -5.88 (s, 1H, $(\text{CH}_2)\text{tcn}$), -3.38 (s, 1H, $(\text{CH}_2)\text{tcn}$), -2.54 (s, 1H, $(\text{CH}_2)\text{tcn}$), -1.00 (s, 1H, $\text{H}_{8a}/\text{H}_{8b}$), -0.81 (s, 1H, $(\text{CH}_2)\text{tcn}$), -0.24 (s, 1H, $(\text{CH}_2)\text{tcn}$), 0.87 (s, 1H, $\text{H}_{8a'}/\text{H}_{8b'}$), 1.31 (s, 1H, $\text{H}_{8a'}/\text{H}_{8b'}$), 2.38 (s, 1H, $(\text{CH}_2)\text{tcn}$), 2.48 (s, 1H, H_7/H_7'), 3.66 (s, 1H, $(\text{CH}_2)\text{tcn}$), 4.82 (s, 1H, $(\text{CH}_2)\text{tcn}$), 6.49 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H, $\text{H}_{11}/\text{H}_{11'}$), 6.54 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H, H_9/H_9'), 7.09 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H, $\text{H}_{11}/\text{H}_{11'}$), 7.10 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H, H_9/H_9'), 7.87 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H, $\text{H}_{10}/\text{H}_{10'}$), 8.13 (m, 1H, H_7/H_7'), 8.13 (m, 1H, $\text{H}_{10}/\text{H}_{10'}$), 8.32 (s, 1H, $\text{H}_{8a}/\text{H}_{8b}$), 21.62 (s, 1H, $(\text{CH}_2)\text{tcn}$).

RMN ^1H à 25°C (D_2O , 400 MHz, 25°C, pD 5.5): δ = -13.19 (s, 1H, $(\text{CH}_2)\text{tcn}$), -9.87 (s, 1H, $(\text{CH}_2)\text{tcn}$), -9.61 (s, 1H, $(\text{CH}_2)\text{tcn}$), -7.62 (s, 1H, $(\text{CH}_2)\text{tcn}$), -5.64 (s, 1H, $(\text{CH}_2)\text{tcn}$), -1.02 (s, 1H, $(\text{CH}_2)\text{tcn}$), -2.17 (s, 1H, $\text{H}_{8a}/\text{H}_{8b}$), -1.74 (s, 1H, $(\text{CH}_2)\text{tcn}$), -0.99 (s, 1H, $(\text{CH}_2)\text{tcn}$), 0.41 (s, 1H, $\text{H}_{8a}/\text{H}_{8b}$), 0.41 (s, 1H, $\text{H}_{8a}/\text{H}_{8b}$), 2.79 (s, 1H, $(\text{CH}_2)\text{tcn}$), 2.79 (s, 1H, H_7/H_7), 3.38 (s, 1H, $(\text{CH}_2)\text{tcn}$), 5.72 (s, 1H, $(\text{CH}_2)\text{tcn}$), 6.62 (m, 1H, H_9/H_9), 7.16 (m, 1H, $\text{H}_{11}/\text{H}_{11}$), 7.25 (m, 1H, H_9/H_9), 8.00 (m, 1H, $\text{H}_{10}/\text{H}_{10}$), 8.30 (m, 1H, H_7/H_7), 9.55 (m, 1H, $\text{H}_{10}/\text{H}_{10}$), 10.10 (s, 1H, $\text{H}_{8a}/\text{H}_{8b}$), 26.33 (s, 1H, $(\text{CH}_2)\text{tcn}$).

L'attribution des signaux a été obtenue à partir de l'interprétation simultanée des couplages scalaires (expérience COSY) et de l'effet Overhauser (NOESY).

III.4. Ligand *mpatcn*³⁻

Les complexes $[\text{Ln}(\text{mpatcn})]$ ($\text{Ln} = \text{Lu}, \text{La}, \text{Eu}$) pour les mesures de RMN ^1H en solution ont été préparés *in situ* en dissolvant des quantités équimolaires de ligand et de sel de lanthanide $\text{Ln}(\text{OTf})_3$ dans D_2O . Le pD a été ajusté par une solution de NaOD dans D_2O (1M et/ou 0.1 M). Des concentrations de 2.10^{-2} M to 5.10^{-2} M ont été utilisées. Les valeurs de pD données sont corrigées par rapport aux effets isotopiques du deutérium.



- $[\text{Eu}(\text{mpatcn})(\text{H}_2\text{O})_2]$

RMN ^1H à 70°C (D_2O , 400 MHz, 70°C, pD 7.2): δ = -3.90 (s, 2H, $(\text{CH}_2)\text{tcn}$), -2.52 (s, 1H, $(\text{CH}_2)\text{tcn}$), -1.59 (s, 2H, $(\text{CH}_2)\text{tcn}$), -1.09 (d, $J = 14.8$ Hz, 2H, $\text{H}_{11a}/\text{H}_{11b}$), -0.90 (s, 2H, $(\text{CH}_2)\text{tcn}$), 0.04 (s, 2H, $(\text{CH}_2)\text{tcn}$), 1.04 (s, 2H, $(\text{CH}_2)\text{tcn}$), 2.66 (m, 2H, $\text{H}_{11a}/\text{H}_{11b}$), 3.64 (s, 1H, H_8), 6.74 (s, 1H, H_9), 7.16 (s, 1H, H_{10}), 9.00 (s, 2H, H_7).

L'attribution des signaux a été obtenue à partir de l'interprétation simultanée des couplages scalaires (expérience COSY) et de l'effet Overhauser (NOESY).

- $[\text{Lu}(\text{mpatcn})(\text{H}_2\text{O})_x]$

RMN ^1H à 70°C (D_2O , 400 MHz, 70°C, pD 7.0): δ = 3.03 (m, 2H, $(\text{CH}_2)\text{tcn}$), 3.14 (s, 8H, $(\text{CH}_2)\text{tcn}$), 3.18 (m, 2H, $\text{CH}_2(\text{tcn})$), $\delta_A = 3.50$, $\delta_B = 3.78$ (dd, $J_{AB} = 16.6$ Hz, 4H, $\text{H}_{11a}/\text{H}_{11b}$), 4.46 (s, 2H, H_7), 7.72 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H, H_8), 8.10 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H, H_{10}), 8.23 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H, H_9).

III.5. Ligand dpaa³⁻

- [Gd(dpaa)(H₂O)₃]

Une solution de GdCl₃.6H₂O (0.17 mmol) dans 1 mL d'eau milliQ est ajoutée à 2 mL d'une solution aqueuse de H₃dpaa (0.17 mmol). Le pH du mélange est ajusté à pH ~6 par addition d'une solution de NaOH 1M. Après évaporation à sec, le solide est suspendu dans 20 mL d'éthanol anhydre puis le mélange est réfrigéré à 4°C pendant une nuit. Les sels insolubles (NaCl) sont ensuite majoritairement éliminés par filtration. La solution est évaporée à sec et le solide obtenu est dissout dans 0.7 mL d'eau milliQ. La diffusion lente d'acétonitrile à 4°C (~5 ml) donne un solide blanc microcristallin. On obtient ainsi le complexe [Gd(dpaa)] (65%).

ES-MS *m/z* (%): 771.9 (30) [(Gd(dpaa))₃+2Na]²⁺, 1022.0 (100) [(Gd(dpaa))₄+2Na]²⁺, 1271.7 (30) [(Gd(dpaa))₅+2Na]²⁺, 1520.9 (30) [(Gd(dpaa))₃+Na]⁺.

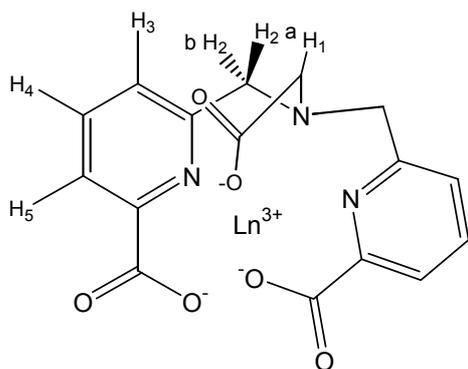
Analyse élémentaire calculée pour [Gd(dpaa)].0.8 NaCl. 5.8 H₂O. 0.2 EtOH (659.99): C 29.85, H 3.79, N 6.37, Gd 23.83; expérimentale : C 29.96, H 3.79, N 6.39, Gd 23.53%.

Des cristaux de [Gd(dpaa)(H₂O)₂]₂{[Gd(dpaa)(H₂O)(OH)]Na(H₂O)₂]₂Na(OH)(H₂O)₃.CH₃OH.6H₂O]_∞ ont été obtenus par lente évaporation d'une solution ~10⁻² M de Gd(dpaa) après avoir préalablement ajusté le pH à 8.

- [Lu(dpaa)(H₂O)₂]

Une solution de LuCl₃.6H₂O (0.048 mmol) dans l'eau milliQ (1 mL) est ajoutée à 2 mL d'une solution aqueuse de H₃dpaa (0.048 mmol). Le pH du mélange est ajusté à pH = 5.27 à l'aide d'une solution de KOH 1M. La solution a été concentrée jusqu'à ~1 mL puis réfrigérée à 4 °C. Après quelques jours, des cristaux blancs apparaissent. Le KCl a été éliminé par lavages successifs avec de faibles quantités d'eau à 0°C. Le solide est séché pour donner le complexe [Lu(dpaa)(H₂O)₂] sous la forme d'un solide blanc microcristallin (82%). Des monocristaux de bonne qualité pour la DRX ont été obtenus par évaporation lente de la même solution.

Analyse élémentaire calculée pour [Lu(dpaa)]. 0.7 KCl. 1.0 H₂O. 0.8 EtOH (624.31): C 33.87, H 3.04, N 6.73; expérimentale : C 33.99, H 3.02, N 6.59%.



[Lu(dpaa)(H₂O)₂] RMN ¹H (D₂O, 400 MHz, 25°C, pD 6.7): δ=3.85 (s, 2H, H₁), δ_A = 4.46, δ_B = 4.52 (dd, J_{AB} = 15.4 Hz, 4H, H_{2a} + H_{2b}), 7.83 (d, J = 7.6 Hz, 2H, H₃), 8.10 (d, J = 7.6 Hz, 2H, H₅), 8.25 (d, J = 7.6 Hz, 2H, H₄).

- $^1\text{H RMN}$

Les complexes de $[\text{Ln}(\text{dpaa})]$ ($\text{Ln} = \text{La}, \text{Eu}$) pour les mesures de RMN ^1H en solution sont préparés *in situ* en dissolvant des quantités équimolaires de ligand et de sel de lanthanide $\text{Ln}(\text{OTf})_3$ dans D_2O . Le pD est ajusté par une solution de NaOD dans D_2O (1M et/ou 0.1 M). Des concentrations de $2 \cdot 10^{-2}$ M to $5 \cdot 10^{-2}$ M sont utilisées. Les valeurs de pD données sont corrigées par rapport aux effets isotopiques du deutérium.

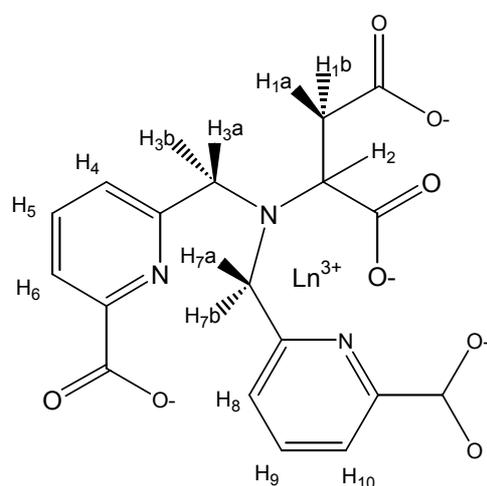
$[\text{La}(\text{dpaa})(\text{H}_2\text{O})_x]$ RMN ^1H (D_2O , 400 MHz, 25°C, pD 8.1): $\delta=3.62$ (s, 2H, H_1), 4.13 (d, $J = 16$ Hz, 2H, $\text{H}_{2a}/\text{H}_{2b}$), 4.26 (d, $J = 16$ Hz, 2H, $\text{H}_{2a}/\text{H}_{2b}$), 7.61 (d, $J = 8$ Hz, 2H, H_3), 7.93 (d, $J = 8$ Hz, 2H, H_5), 8.03 (t, $J = 8$ Hz, 2H, H_4).

$[\text{Eu}(\text{dpaa})(\text{H}_2\text{O})_3]$ RMN ^1H (D_2O , 400 MHz, 25°C, pD 7.9): $\delta=-2.78$ (s, 2H, H_1), 3.25 (s, 2H, H_3/H_5), 3.87 (s, 2H, $\text{H}_{2a}/\text{H}_{2b}$), 6.64 (s, 2H, H_4), 7.50 (s, 2H, H_3/H_5), 10.76 (s, 2H, $\text{H}_{2a}/\text{H}_{2b}$).

Les protons des pyridines ont pu être attribués par COSY. Les tâches de corrélation des couplages scalaires H_4/H_2 d'une part et H_4/H_5 d'autre part ont été observées.

III.6. Ligand dpaba $^{4-}$

Les complexes de $[\text{Ln}(\text{dpaba})]^-$ ($\text{Ln} = \text{Lu}, \text{La}, \text{Eu}$) pour les mesures de RMN ^1H en solution ont été préparés *in situ* en dissolvant des quantités équimolaires de ligand et de sel de lanthanide $\text{Ln}(\text{OTf})_3$ dans D_2O . Le pD a été ajusté par une solution de NaOD dans D_2O (1M et/ou 0.1 M). Des concentrations de $2 \cdot 10^{-2}$ M to $5 \cdot 10^{-2}$ M ont été utilisées. Les valeurs de pD données sont corrigées par rapport aux effets isotopiques du deutérium.

- **$[\text{Eu}(\text{dpaba})(\text{H}_2\text{O})_2]$**

RMN ^1H à 25°C (D_2O , 400 MHz, 25°C, pD 7.3): $\delta=-4.35$ (s, 1H, $\text{H}_{1a}/\text{H}_{1b}$), -1.64 (d, $J = 19.6$ Hz, 1H, $\text{H}_{1a}/\text{H}_{1b}$), -1.07 (s, 2H, $\text{H}_{7a} + \text{H}_{7b}$), 2.21 (s, 1H, $\text{H}_{3a}/\text{H}_{3b}$), 4.40 (d, $J = 19.6$ Hz, 1H, H_2), 5.61 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H, H_{10}), 6.31 (s, 1H, H_6), 7.81 (t, $J = 7.2$ Hz, 1H, H_9), 7.93 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H, H_8), 8.71 (t, $J = 7.2$ Hz, 1H, H_5), 10.34 (s, 1H, H_4), 19.64 (s, 1H, $\text{H}_{3a}/\text{H}_{3b}$).

RMN ^1H à 70°C (D_2O , 400 MHz, 70°C, pD 7.3): $\delta=-3.23$ (s, 1H, $\text{H}_{1a}/\text{H}_{1b}$), -0.60 (d, $J = 19.6$ Hz, 1H, $\text{H}_{1a}/\text{H}_{1b}$), 0.30 (s, 1H, $\text{H}_{7a}/\text{H}_{7b}$), 0.66 (s, 1H, $\text{H}_{7a}/\text{H}_{7b}$), 2.85 (s, 1H, $\text{H}_{3a}/\text{H}_{3b}$), 4.17 (d, $J = 19.6$ Hz, 1H, H_2), 6.25 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H, H_{10}), 7.03 (s, 1H, H_6), 8.26 (m, 2H, H_9+H_8), 9.06 (t, $J = 7.2$ Hz, 1H, H_5), 10.21 (s, 1H, H_4), 16.06 (s, 1H, $\text{H}_{3a}/\text{H}_{3b}$).

- **$[La(dpaba)(H_2O)_x]^-$**

RMN 1H (D₂O, 400 MHz, 298 K, pD 6.7): $\delta_A = 4.46$, $\delta_B = 4.52$ (dd, $J_{AB} = 19.6$ Hz, 2H, CH₂COOH), 3.65 (m, 1H, N(CH)COOH), 4.07 (m, 2H, CH₂py), 4.33 (d, $J = 18.0$ Hz, 1H, CH₂py), 4.64 (d, $J = 15.2$ Hz, 1H, CH₂py), 7.51 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H, CH), 7.71 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, CH), 7.91-7.95 (m, 3H, CH), 8.08 (t, $J = 8.0$ Hz, 1H, CH).

- **$[Lu(dpaba)(H_2O)_x]^-$**

RMN 1H à 25°C (D₂O, 400 MHz, 298 K, pD 7.5): $\delta = 2.93$ (m, 2H, CH₂COOH), 3.84 (m, 1H, N(CH)COOH), 4.22 (d, $J = 17.2$ Hz, 1H, CH₂py), 4.39 (m, 2H, CH₂py), 4.63 (d, $J = 17.2$ Hz, 1H, CH₂py), 7.59 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, CH), 7.68 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H, CH), 7.91 (m, 2H, CH), 8.03 (t, $J = 8.0$ Hz, 1H, CH), 8.10 (t, $J = 7.2$ Hz, 1H, CH).

RMN 1H à 70°C (D₂O, 400 MHz, 298 K, pD 7.5): $\delta_A = 3.40$, $\delta_B = 3.53$ (dd, $J_{AB} = 19.2$ Hz, 2H, CH₂COOH), 4.31 (m, 1H, N(CH)COOH), $\delta_A = 4.69$, $\delta_B = 4.78$ (dd, $J_{AB} = 17.6$ Hz, 2H, CH₂py), $\delta_A = 4.85$, $\delta_B = 5.10$ (dd, $J_{AB} = 17.2$ Hz, 2H, CH₂py), 8.07 (m, 2H, CH), 8.33 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, CH), 8.36 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, CH), 8.49 (t, $J = 8.0$ Hz, 1H, CH), 8.51 (t, $J = 8.0$ Hz, 1H, CH).

III.7. Ligand **$thqtcn^{3-}$**

Une étude en fonction du pH permis de mettre en évidence la présence des complexes de Ln(III) dans différents états de protonation. Plusieurs espèces sont distinguées :

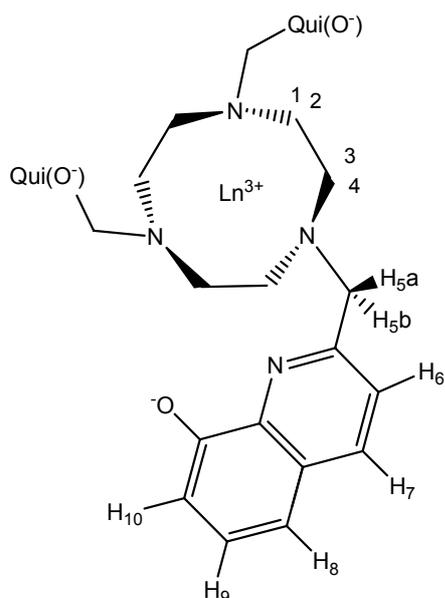
- $[Ln(H_n thqtcn)]^{n+}$: espèces partiellement protonnées solubles

- $[Ln(thqtcn)]$: espèce déprotonnée insoluble.

- **$[Nd(H_n thqtcn)]^{n+}$**

Le complexe de $[Nd(H_n thqtcn)]^{n+}$ est préparé *in situ* en dissolvant des quantité équimolaires de ligand et de Nd(OTf)₃ dans MeOD ($C_{Nd(H_n thqtcn)} = 1.2 \cdot 10^{-3}$ M). Des aliquotes de solution de KOD 1M sont successivement ajoutés et la formation du complexe est suivie par RMN 1H . L'ajout de 0.85 équivalent de base est nécessaire à la formation du complexe. Au-delà de 0.85 équivalent la formation d'un précipité jaune de $[Nd(thqtcn)]$ est observé.

RMN 1H à 25°C (CD₃OD, 400 MHz, 25°C): $\delta = -1.50$ (s, 1H, H_{5a}/H_{5b}), -0.12 (s, 1H, (CH₂)tcn), 5.09 (s, 1H, H_{5a}/H_{5b}), 6.68 (s, 1H, H₉), 6.83 (s, 1H, (CH₂)tcn), 6.83 (s, 1H, H₁₀), 7.47 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, H₈), 8.40 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, H₆), 8.62 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, H₇), 9.10 (s, 1H, (CH₂)tcn), 9.91 (s, 1H, (CH₂)tcn).



RMN ^1H à 40°C (CD_3OD , 400 MHz, 40°C): $\delta = -1.08$ (s, 1H, $\text{H}_{5a}/\text{H}_{5b}$), -0.01 (s, 1H, $(\text{CH}_2)\text{tcn}$), 5.03 (s, 1H, $\text{H}_{5a}/\text{H}_{5b}$), 6.53 (s, 1H, H_9), 6.73 (s, 1H, H_{10}), 6.84 (s, 1H, $(\text{CH}_2)\text{tcn}$), 7.50 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, H_8), 8.41 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, H_6), 8.67 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, H_7), 8.72 (s, 1H, $(\text{CH}_2)\text{tcn}$), 8.43 (s, 1H, $(\text{CH}_2)\text{tcn}$).

L'attribution des signaux a été obtenue à partir de l'interprétation simultanée des couplages scalaires (expérience COSY) et de l'effet Overhauser (NOESY).

La solution préalablement obtenue est diluée à $0.72 \cdot 10^{-3}$ M puis la lente diffusion d'isopropyl éther donne des monocristaux jaunes de $\{[\text{Nd}(\text{H}_{3/2}\text{thqtcn})]^{3/2+}\}_2, 3 \text{ OTf}^-, 3 \text{ MeOH}$.

- ***[Nd(thqtcn)]***

Une solution de $\text{Nd}(\text{OTf})_3$ (0.09 mmol) dans 4 mL de MeOH est ajoutée à 4 mL d'une solution méthanolique de ligand (0.09 mmol). On ajoute tout d'abord 0.85 équivalent de KOH jusqu'à obtention d'une solution jaune d'espèces partiellement protonnées. La solution est placée une nuit au frigo pour faire précipiter les sels qui sont éliminés par filtration sur PTFE. Ensuite, on ajoute 3.3 équivalents de KOH, et on place le mélange au frigo. La lente diffusion de la solution de potasse donne un solide jaune microcristallin qui est séparé par filtration et rincé avec du méthanol et de l'eau milliQ. Après séchage pendant 2 jours sous vide secondaire, on obtient le complexe totalement déprotonné $[\text{Nd}(\text{thqtcn})]$ (33.7 mg, 50%).

Analyse élémentaire calculée pour $[\text{Nd}(\text{thqtcn})]$: C 58.28, H 4.48, N 11.33 (741.93); expérimentale : C 58.89, H 4.52, N 11.14%. Cette analyse a été réalisée en milieu anhydre.

Des cristaux orange de $[\text{Nd}(\text{thqtcn})]$ sont obtenus par lente diffusion d'une solution méthanolique de KOH $1 \cdot 10^{-3}$ M dans une solution de $[\text{Nd}(\text{H}_n\text{thqtcn})]^{n+}$ $4 \cdot 10^{-3}$ M.

- ***[Er(thqtcn)]***

Une solution de $\text{Er}(\text{OTf})_3$ (0.09 mmol) dans 4 mL de MeOH est ajoutée à 4 mL d'une solution méthanolique de ligand (0.09 mmol). On ajoute tout d'abord 0.85 équivalent de KOH jusqu'à obtention d'une solution jaune d'espèces partiellement protonnées. La solution est placée une nuit au frigo pour faire précipiter les sels qui sont éliminés par filtration sur PTFE. Ensuite, on ajoute 3.3

équivalents de KOH, on concentre jusqu'à la limite de solubilité et on place le mélange au frigo. La lente évaporation donne un solide jaune microcristallin qui est séparé par filtration et rincé avec du méthanol et de l'eau milliQ. Après séchage pendant 2 jours sous vide secondaire, on obtient le complexe déprotonné [Er(thqtcn)] (32.6 mg, 48%).

Analyse élémentaire calculée pour [Er(thqtcn)]: C 56.53, H 4.35, N 10.99 (764.95); expérimentale : C 56.98, H 4.22, N 10.73% (en milieu anhydre).

- **[Yb(H_nthqtcn)]ⁿ⁺**

Le complexe de [Yb(H_nthqtcn)]ⁿ⁺ est préparé *in situ* en dissolvant des quantités équimolaires de ligand et de Yb(OTf)₃ dans MeOD (C_{Nd(Hn}thqtcn) = 1.2.10⁻³ M). Des aliquotes de solution de KOD 1M sont successivement ajoutés et la formation du complexe est suivie par RMN ¹H. L'ajout de 0.85 équivalent de base est nécessaire à la formation du complexe. Au-delà de 0.85 équivalent la formation d'un précipité jaune de [Yb(thqtcn)] est observé.

RMN ¹H à 25°C (CD₃OD, 400 MHz, 25°C): δ=-12.11 (s, 1H, (CH₂)tcn), -4.88 (s, 1H, (CH₂)tcn), -3.70 (s, 1H, H_{5a}/H_{5b}), 2.77 (s, 1H, (CH₂)tcn), 4.59 (s, 1H, H_{5a}/H_{5b}), 4.59 (s, 1H, H₁₀), 7.87 (s, 1H, H₉), 8.25 (d, J = 8.0 Hz, 1H, H₈), 9.23 (s, 1H, H₆), 9.95 (s, 1H, H₇), 15.16 (s, 1H, (CH₂)tcn).

RMN ¹H à 15°C (CD₃OD, 400 MHz, 15°C): δ=-13.16 (s, 1H, (CH₂)tcn), -5.41 (s, 1H, (CH₂)tcn), -4.18 (s, 1H, H_{5a}/H_{5b}), 3.60 (s, 1H, (CH₂)tcn), 4.47 (s, 1H, H₁₀), 5.55 (s, 1H, H_{5a}/H_{5b}), 7.89 (s, 1H, H₉), 8.27 (d, J = 8.0 Hz, 1H, H₈), 9.25 (d, J = 8.0 Hz, 1H, H₆), 9.99 (d, J = 8.0 Hz, 1H, H₇), 15.80 (s, 1H, (CH₂)tcn).

L'attribution des signaux a été obtenue à partir de l'interprétation simultanée des couplages scalaires (expérience COSY) et de l'effet Overhauser (NOESY).

La solution préalablement obtenue est diluée à 0.72.10⁻³ M puis la lente diffusion d'isopropyl éther donne des monocristaux jaunes de {[Yb(H_{3/2}thqtcn)]^{3/2+}}₂, 3 OTf⁻, 3 MeOH. Une quantité suffisante de ces longues aiguilles jaunes est obtenue pour effectuer la mesure du rendement quantique à l'état solide de l'espèce dimérique {[Yb(H_{3/2}thqtcn)]^{3/2+}}₂.

- **[Yb(thqtcn)]**

Une solution de Yb(OTf)₃ (0.10 mmol) dans 4 mL de MeOH est ajoutée à 4 mL d'une solution méthanolique de ligand (0.10 mmol). On ajoute tout d'abord 0.85 équivalent de KOH jusqu'à obtention d'une solution jaune d'espèces partiellement protonnées. La solution est placée une nuit au frigo pour faire précipiter les sels qui sont éliminés par filtration sur PTFE. Ensuite, on ajoute 3.3 équivalents de KOH, on concentre jusqu'à limite de solubilité et on place le mélange au frigo. La lente

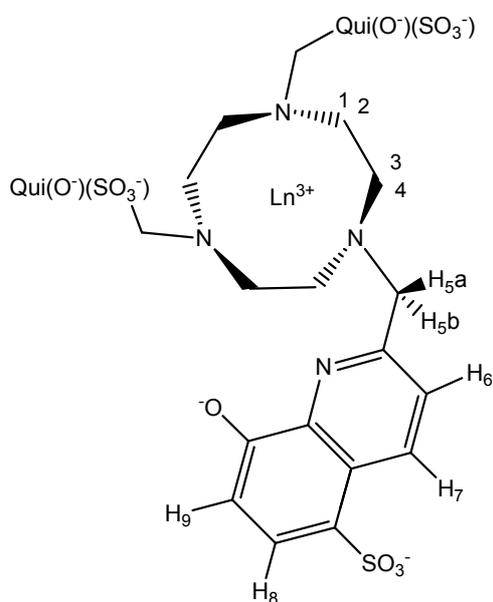
évaporation donne un solide jaune microcristallin qui est séparé par filtration et rincé avec du méthanol et de l'eau milliQ. Après séchage pendant 2 jours sous vide secondaire, on obtient le complexe [Yb(thqtcn)] (67.2 mg, 87%).

Analyse élémentaire calculée pour [Yb(thqtcn)]: C 56.10, H 4.32, N 10.90 (770.73); expérimentale : C 55.81, H 4.06, N 10.65% (en milieu anhydre).

III.8. Ligand thqtcn-SO₃⁶⁻

Le complexe de [Nd(thqtcn-SO₃)]³⁻ a été préparé *in situ* en dissolvant des quantités équimolaires de ligand et de Nd(OTf)₃ dans D₂O (4.10⁻³ M). Le pD a été ajusté par une solution de NaOD dans D₂O (1M et 0.1 M). La valeur de pD est corrigée par rapport aux effets isotopiques du deutérium.

- [Nd(thqtcn-SO₃)]³⁻



RMN ¹H à 25°C (D₂O, 400 MHz, 25°C, pD 7.7):
 δ =0.46 (s, 1H, (CH₂)tcn), 0.78 (s, 1H, (CH₂)tcn), 1.68 (s, 1H, (CH₂)tcn), 4.82 (s, 1H, (CH₂)tcn), 5.46 (s, 1H, H_{5a}/H_{5b}), 5.97 (s, 1H, H_{5a}/H_{5b}), 6.87 (d, J = 7.0 Hz, 1H, H₉), 8.89 (d, J = 7.0 Hz, 1H, H₈), 9.83 (d, J = 8.0 Hz, 1H, H₆), 10.32 (d, J = 8.0 Hz, 1H, H₇).

RMN ¹H à 70°C (D₂O, 400 MHz, 70°C, pD 7.7):
 δ =0.62 (s, 1H, (CH₂)tcn), 1.30 (s, 1H, (CH₂)tcn), 1.75 (s, 1H, (CH₂)tcn), 4.50 (s, 1H, (CH₂)tcn), 5.16 (s, 1H, H_{5a}/H_{5b}), 5.54 (s, 1H, H_{5a}/H_{5b}), 6.81 (d, J = 7.0 Hz, 1H, H₉), 8.75 (d, J = 7.0 Hz, 1H, H₈), 9.46 (d, J = 8.0 Hz, 1H, H₆), 10.52 (d, J = 8.0 Hz, 1H, H₇).

L'attribution des signaux a été obtenue à partir de l'interprétation simultanée des couplages scalaires (expérience COSY) et de l'effet Overhauser (NOESY).

IV. Méthodes analytiques

Les solutions de sels métalliques préparées à partir des sels commerciaux en vue de mesures de potentiométrie, spectrophotométrie ou spectrofluorimétrie, ainsi que de relaxométrie ou de mesures RMN ¹H sont systématiquement dosées par colorimétrie avant d'être utilisées. Ce dosage permet d'accéder au taux d'hydratation du sel utilisé.

Dosage des sels de Ln(III) et Zn(II)

A un volume connu de solution de sel métallique (1 à 5 mL), on ajoute 10 mL de tampon acétique ($[\text{CH}_3\text{COOH}] = [\text{CH}_3\text{COO}^-] = 0,1 \text{ M}$, $\text{pH} = 4,75$) et 3-4 gouttes de xylénol orange comme indicateur coloré. La solution est dosée par une solution de titriplex (III) ($\text{EDTAH}_2\text{Na}_2$) selon l'équation bilan suivante :



Lorsque $3 \leq \text{pH} \leq 5$, l'indicateur coloré est mauve quand il est complexé par le cation métallique, jaune sinon. Après le virage de l'indicateur coloré, quelques gouttes de CH_3COONa sont ajoutées. Si la coloration jaune disparaît, le dosage doit être poursuivi.

Dosage des sels de Ca(II)

Les ions Ca(II) sont dosés de manière similaire par le titriplex (III) dans une solution de KOH (le pH est ajusté à 12.5). L'indicateur coloré utilisé est le calcon ou noir d'eriochrome bleu R (acide 1-(2-hydroxy-1-naphtylazo)-2-naphtosulfonique). C'est un triacide de pK_a respectifs 1, 7.3 et 13.5 qui est bleu en solution aqueuse à $\text{pH} = 12,5$ et rose en présence de Ca(II) .

IV.1. Etudes potentiométriques

IV.1.1. Matériel utilisé

L'appareil utilisé est un potentiomètre (751 GPD titrino Metrohm) équipé d'une burette automatique ($V = 5 \text{ mL}$). Le pH est mesuré à l'aide d'une électrode de verre combinée Metrohm (Référence : Ag/AgCl , dans $\text{KCl } 3 \text{ M}$). La cellule de mesure est thermostatée à $25,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$ et la température de la solution est mesurée par une électrode à thermocouple. Tous les dosages sont réalisés sous atmosphère d'argon pour éliminer le CO_2 atmosphérique.

Chaque dosage est effectué à force ionique constante, dans $\text{KCl } 0,1 \text{ M}$. Les solutions titrantes de HCl et de $\text{KOH } 0,1 \text{ M}$ sont préparées par dilution d'ampoules commerciales titrées (Titrisol, Merck) avec de l'eau milliQ (eau déminéralisée de résistivité $18 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$ obtenue par le système Millipore/MilliQ). Les solutions titrantes sont renouvelées tous les mois ou lorsque le pourcentage de carbonate de la solution de KOH -déterminé par la méthode de Gran- n'est plus négligeable (supérieur à 2% de la concentration totale de base).^[5]

IV.1.2. Calibration de l'électrode

Il s'agit de déterminer la caractéristique $E = f(\text{pH})$ de l'appareil. En effet, la force électromotrice E (mV) de la solution est donnée par la relation suivante :

$$E_{\text{mesurée}} = E^{\circ} - f \times \frac{1000 \times RT \times \ln 10}{F} \times \text{pH}$$

avec $R = 8.314 \text{ J.K}^{-1}.\text{mol}^{-1}$, $T = 298 \text{ K}$
et $F = 96500 \text{ C.mol}^{-1}$ (constante de Faraday).

Calibrer l'électrode revient donc à déterminer les paramètres E° et f qui sont respectivement l'ordonnée à l'origine et la pente de la droite $E = f(\text{pH})$.

0.6 mL d'une solution de HCl 0.1 M dissous dans 20 mL d'une solution de KCl 0.1 M sont dosés par une solution de KOH 0.1M. 24 incréments de 0.05 mL sont distribués. A chaque incrément, la force électromotrice E de la solution est mesurée et le pH calculé. Des calibrations systématiques sont effectuées avant chaque dosage. L'électrode est considérée comme stable lorsque les valeurs de E° et f sont reproductibles sur 2 à 3 étalonnages.

IV.1.3. Dosages

- **Détermination des pK_a du ligand**

Une solution de 20 mL de ligand ($4.10^{-4} \text{ M} - 1.10^{-3} \text{ M}$) dans KCl 0.1 M est dosée par KOH 0.1 M. Des incréments de 10 μL sont utilisés et un temps d'attente de 120 s entre deux mesures est imposé. Plus de soixante-dix points sont collectés. Un dosage retour par HCl est réalisé systématiquement dans les mêmes conditions. Chaque expérience est réalisée trois fois.

- **Détermination des constantes de complexation**

20 mL d'une solution de complexe dans KCl 0.1 M sont préparés à partir de la solution de ligand précédemment dosée et d'une solution mère de sel métallique dans l'eau milliQ de concentration connue ($\sim 4.10^{-3} \text{ M}$) (voir § III.). Les quantités de solutions introduites sont ajustées à la stoechiométrie voulue : L : M 1 : 1 ou 2 : 1 ($[\text{L}] \sim 5.10^{-4} \text{ M}$). La solution à titrer est acidifiée si nécessaire en ajoutant une quantité connue de HCl 0.1 M. Des incréments de 10 μL sont utilisés et un temps d'attente de 360 s entre deux mesures est imposé. Plus de cinquante points sont collectés. De même, un dosage retour par HCl est réalisé systématiquement et chaque expérience est réalisée trois fois.

- **Ajustement par Hyperquad 2000**

L'ajustement mathématique des courbes $\text{pH}_{\text{mesuré}} = f(V_{\text{ajouté}})$ à l'aide du programme Hyperquad 2000^[6] permet d'accéder aux constantes de protonations du ligand Ka_i et aux constantes de formation des complexes β_i . Les concentrations initiales en ligand, proton et métal sont fixées, ainsi que la valeur de pKw (13.78 à 298 K et force ionique 0.1 mol.L^{-1}).^[5] Lors de la détermination des constantes de complexation, les valeurs de Ka_i trouvées pour le ligand sont également fixées. L'erreur estimée dans les observations expérimentales est représentée par la valeur σ . Le modèle utilisé est considéré comme

valide si σ est proche de 1. Toutes les valeurs et les erreurs représentent la moyenne d'au moins trois expériences indépendantes.

IV.2. Mesures de luminescence

IV.2.1. Luminescence dans le visible (Ln = Eu, Tb)

Toutes les mesures de luminescence des complexes émettant dans le visible sont effectuées en solution sur un fluorimètre Perkin-Elmer LS-50B équipé d'une lampe à xénon pulsée et d'un photomultiplicateur de type R928. La solution étudiée est placée dans une cuve en quartz Suprasil (Perkin-Elmer) de 10 mm ou 2 mm d'épaisseur (selon la quantité de solution disponible), à température ambiante (20°C).

Les spectres d'absorption UV-visible sont enregistrés en solution sur un spectromètre Cary 50 Probe UV/Vis Perkin-Elmer. De même, la solution étudiée est placée dans une cuve en quartz Suprasil de 10 mm d'épaisseur, à température ambiante (20°C).

- Mesure des temps de vie de phosphorescence en solution

Les spectres d'excitation et d'émission de solutions de complexes préparés *in situ* (Ln = Eu, Tb) sont enregistrés. Pour l'Eu(III) et le Tb(III), l'intensité d'émission est maximale aux longueurs d'onde d'émission λ_{em} suivantes : 616 nm (transition $^5D_0-^7F_2$) et 545 nm (transition $^5D_4-^7F_5$) respectivement.

L'excitation peut avoir lieu :

- par l'intermédiaire du ligand (effet « d'antenne ») lorsque celui-ci possède un chromophore. La longueur d'onde d'excitation λ_{ex} du ligand est donnée par le maximum du spectre d'excitation à λ_{em} fixée ;
- ou directement sur le métal. Les coefficients d'absorption molaire sont alors beaucoup plus faibles et de plus fortes concentrations de complexes devront être utilisés : $\lambda_{ex}(\text{Eu}) = 396 \text{ nm}$ ($\epsilon = 2,77 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) et $\lambda_{ex}(\text{Tb}) = 368 \text{ nm}$ ($\epsilon = 0,34 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$).

Le temps de vie de phosphorescence τ est déterminé à partir de la décroissance temporelle de l'intensité d'émission à λ_{em} après excitation à λ_{ex} .

Les paramètres d'enregistrement des spectres sont les suivants : 5 flashes d'excitation, un délai entre l'excitation et l'acquisition (« delay ») variable de 0.05 à 10 ms (3 à 4 τ) et un temps d'acquisition (« gate time ») de 10 ms. L'ouverture des fentes d'excitation et d'émission est ajustée afin d'avoir le maximum d'intensité tout en conservant une bonne résolution du spectre. Toutes les valeurs et les erreurs représentent la moyenne d'au moins trois expériences indépendantes.

- **Détermination du nombre de molécules d'eau en première sphère de coordination des cations Eu(III) et Tb(III)**

Mesures dans l'eau

Pour chaque cation, deux solutions (une dans le tampon TRIS pH = 7.4 et une dans D₂O 99,8%) sont analysées. Les complexes sont préparés *in situ*. Le pD de la solution d'eau lourde est ajusté (pD ~7) avec une solution de NaOD dans D₂O. Les concentrations utilisées sont les suivantes :

- [Eu³⁺] = 0.50 mM, [L] = 0.51 mM
- [Tb³⁺] = 0.050 mM, [L] = 0.051 mM.

L'excitation se fait par l'intermédiaire du ligand.

Mesures en présence d'Albumine de Sérum Bovin (BSA)

Des solutions 4mM de [Tb(dpaa)] en présence de 12% m/v BSA ([Tb(dpaa)] = 3.92 mM, [BSA] = 1.8 mM, pH = 7.0) ont été préparées *in situ* en dissolvant une quantité appropriée de BSA dans une solution de [Tb(dpaa)] (dans l'eau milliQ ou dans D₂O à pH~7, ajusté avec NaOH or NaOD) de concentration connue. Les spectres d'émission ont été enregistrés par excitation directe du métal et via l'intermédiaire du ligand. Les résultats obtenus sont similaires dans les deux cas.

Dans chacun des cas, le nombre de molécule d'eau coordonnées au métal est calculé en utilisant les équations décrites en Annexe 1.

- **Mesure du rendement quantique en solution**

Les paramètres d'enregistrement des spectres d'émission sont les suivants : 1 flash d'excitation, un délai entre l'excitation et l'acquisition fixe de 0 ms et un temps d'acquisition de 10 ms. L'ouverture des fentes d'excitation et d'émission est ajustée afin d'avoir le maximum d'intensité tout en conservant une bonne résolution du spectre. Des solutions environ 10⁻⁶ M des complexes d' Eu(III) et de Tb(III) étudiés et des références sont préparées *in situ* en mélangeant des volumes appropriés de solution titrée de Ln(III) dans l'eau (milliQ ou D₂O) et de ligand (dans le tampon TRIS 0.1 M, pH = 7.4 ou dans D₂O, pH = 6.5 – 7.5 ajusté avec NaOD). La concentration des solutions est ajustée pour avoir une absorbance maximale de 0.05 ± 0.02.

Le traitement des données est réalisé selon le protocole décrit en Annexe 4. Les références utilisées y sont également précisées.

IV.2.2. Luminescence dans le proche infrarouge

Les études de luminescence dans l'infrarouge ont fait l'objet d'une collaboration avec le laboratoire du Pr. J.C. Bünzli, à l'EPF Lausanne.

Les mesures de luminescence basse résolution (spectres et temps de vie) sont réalisées sur un spectromètre Fluorolog FL-32 de chez Spex-Jopin-Yvon-Horiba possédant des doubles monochromateurs d'émission et d'excitation et un photomultiplicateur R928P. Les mesures dans le proche infra-rouge sont réalisées par l'intermédiaire d'un deuxième canal de mesure, équipé d'un monochromateur FL-1004. L'intensité lumineuse est mesurée par deux détecteurs solides InGaAs Jobin-Yvon, i) DSS-IGA020, refroidit à 77 K (800 à 1600 nm), ii) DSS-IGA020A (800 à 1700 nm), à température ambiante, insérés dans un système LN2 incluant un miroir elliptique (faisceau à 90°) et couplé à un système d'acquisition Jobin Yvon SpectrAcqu2. Tous les spectres sont corrigés par rapport aux fonctions expérimentales.

Les mesures de luminescence moyenne et haute résolution sont réalisées de la manière suivante. Tous les composants électroniques sont connectés à une carte de contrôle PCI qui assure la connexion entre les appareils et l'ordinateur et permet le traitement des données par un programme développé au laboratoire avec le logiciel Labview 7.0 de National Instrument. Trois types de lampes reliées à des fibres optiques Optonet ont été utilisées pour l'excitation : i) une lampe xénon haute pression Zeiss XBO 450 W couplée à un monochromateur Oriol 1/4 M 77200 contrôlé par un moteur pas à pas et un obturateur spécialement développés pour l'excitation large bande, ii) un laser Cohérent CR-599 à longueur d'onde ajustable (bande passante 0.03 nm, 50-300 mW) pompé par un laser continu Cohérent Innova-90 (8W) pour lequel les raies à 465.8, 488 et 514 nm sont utilisées, et iii) un laser accordable Opotek Vibrant 335 I incluant un laser Nd :Yag Quantel brillant (330 mJ à 1064 nm) équipé d'un doubleur de fréquence (160 mJ à 532 nm), d'un tripleur (110 mJ à 335 nm), d'un quadrupleur (54 mJ à 266 nm) et d'un cristal MagicPrism^T OPO (bande passante 2-15 cm⁻¹, 25-54 mJ de 410 à 690 nm et 2-12 mJ de 720 à 2400 nm), pompés à 335 nm. La lumière émise est analysée à 90° par un monochromateur Spex 1870 à réseaux holographiques 950g/nm blasés à 900 nm. L'intensité lumineuse est mesurée par un photomultiplicateur NIR Hamamatsu PMT Module H9170-75 équipé d'un adaptateur A9176MOD et couplé pour les spectres d'émission à un double compteur de photons Stanford Research SR-400.

Pour la détermination des temps de vie, le signal de sortie du photomultiplicateur est recueilli par un oscilloscope Lecroy LT262 (1 GHz) pour éviter la saturation du signal, puis dans un moyennneur multi canal Stanford Rsearch SR-430. Les données sont transférées à un PC et corrigées pour les fonctions expérimentales. Les valeurs données pour les temps de vie représentent la moyenne de trois expériences indépendantes, réalisées en mode phosphorescence en faisant varier le délai d'acquisition au maximum du spectre d'émission (0.05 – 0.5 ms). La décroissance mono exponentielle est analysée avec Origin 7.0.

Les rendements quantiques ont été déterminés par une méthode absolue utilisant une sphère d'intégration^[7].

Etude des complexes [Ln(thqtcn)] (Ln = Yb, Nd, Er)

Les complexes de [Ln(thqtcn)] préalablement isolés et séchés ont été étudiés (temps de vie et rendement quantique) à l'état solide, dans des capillaires en quartz Suprasil.

Etude des complexes [Ln(thqtcn-SO₃)]³⁻ (Ln = Yb, Nd, Er)

Les complexes [Ln(thqtcn-SO₃)]³⁻ ont été étudiés en solution, dans des cuves en quartz Suprasil avec un chemin optique de 0.2 cm. Des solutions des complexes [Ln(thqtcn-SO₃)]³⁻ à pH = 7.4 dans le tampon TRIS ont été réalisées *in situ* en mélangeant le ligand et le sel de lanthanide Ln(OTf)₃ correspondant dans les proportions stoechiométriques. Des solutions de concentration 1.10⁻³ M ont été utilisées.

IV.3. Etudes par Spectroscopie par Résonance Magnétique Nucléaire

Différents appareils et spectromètres ont été utilisés en fonction du champ magnétique, de la sensibilité ou de la résolution souhaitée.

- 45 MHz :** - minispec BRUKER « mqvar » ND2318 (¹H : 42.2 MHz)
- 60 MHz :** - électroaimant Drush commandé par une console Apollo tecmag (¹H : 59.8 MHz)
- 200 MHz :** - spectromètre BRUKER Avance 200 (¹H : 200.13 MHz)
- 400 MHz :** - Mercury VARIAN 400 (¹H : 400.12 MHz)
- Unity VARIAN 400 (¹H : 399.96 MHz)
- 500 MHz :** - BRUKER Avance 500 (¹H : 500.13 MHz)

Sauf mention contraire, les spectres ont été enregistrés à une température réelle de la sonde contrôlée à 298 K. Les valeurs de pH reportées sont corrigées par rapport à l'effet isotopique du deutérium selon l'équation suivante :^[8]

$$pH = pD_{\text{apparent}} + 0.4$$

Si la référence n'est pas mentionnée, les déplacements chimiques ont été reportés en utilisant le solvant comme référence interne. Le déplacement des protons HOD est ajusté en fonction de la température en utilisant l'équation de Nudelman.^[9]

IV.3.1. Détermination des constantes de protonation du ligand H₃bpatn par RMN ¹H

Les spectres RMN ¹H ont été enregistrés sur le spectromètre Mercury VARIAN 400 à 25°C. Des solutions de H₃bpatcn dans D₂O (1.8.10⁻²M) ont été préparées. Le sel de 2,2-diméthyl-2-silapentane-5 sulfonate sodium (DSS, 10⁻³M) a été introduit comme référence interne. Les valeurs du pD apparent ont été ajustées par l'ajout de solutions diluées de NaOD/D₂O et DCI/D₂O (Aldrich). Elles sont

mesurées par une microélectrode combinée reliée à un pH-mètre MeterLab PHM 220. La force ionique n'a pas été ajustée.

IV.3.2. Mesures des temps de relaxation

Trois types de temps de relaxation ont été mesurés : i) le temps de relaxation longitudinale T_1 correspondant au temps de retour à l'équilibre selon l'axe privilégié de l'aimantation (axe z), ii) le temps de relaxation transversale T_2 correspondant au temps de retour à l'équilibre de l'aimantation macroscopique dans le plan (x,y) et iii) le temps de relaxation transversal $T_{1\rho}$ correspondant au temps de décroissance de l'aimantation dans le repère tournant. Le principal intérêt de la mesure de $T_{1\rho}$ est de s'affranchir de l'évolution de l'aimantation selon le couplage J entre noyaux.

Avant chaque expérience, l'impulsion à 90° est calibrée, et le délai $d1$ (délai de retour à l'équilibre) est fixé à $5 T_1$. Pour chaque expérience, le traitement des données est réalisé en intensités et en intégrales afin de vérifier que les résultats obtenus sont similaires dans les deux cas. En général, on admet que l'erreur sur la mesure est de 5% environ.

- **Mesure de T_1**

Les mesures ont été réalisées sur l'ensemble des spectromètres. La séquence d'inversion-récupération présentée Figure 1 a été utilisée. La perturbation est une impulsion à 180° qui inverse l'aimantation selon l'axe z, suivie d'une attente pendant un délai τ variable et d'une impulsion de lecture à 90° . Aq correspond au temps d'acquisition et $d1$ au délai de retour à l'équilibre de l'aimantation (5 à $7 T_1$).

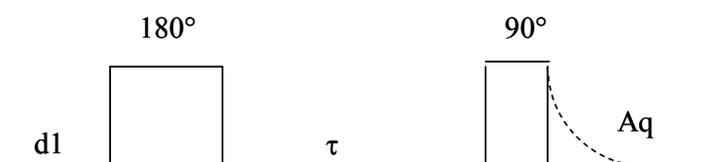


Figure 1 : Séquence d'inversion récupération pour la mesure de T_1 .

D'après les équations de Bloch, le retour à l'équilibre de l'aimantation est régi par l'équation :

$$M_z(\tau) = M_0 \left[1 - 2 \exp\left(-\frac{\tau}{T_1}\right) \right]$$

Pour chaque échantillon, les valeurs de T_1 ont été obtenues par ajustement d'une exponentielle à trois paramètres, prenant en compte le retournement imparfait de l'aimantation après l'impulsion à 180° , ceci pour des délais τ variant de quelques millisecondes à $d1$.

- **Mesure de T_2**

Une perturbation initiale de 90° est d'abord appliquée. L'aimantation évolue ensuite selon une séquence d'écho de Carr-Purcell et Meiboom-Gill (Figure 2). Ceci permet une défocalisation, puis une

refocalisation des spins dans le plan (x,y), annulant ainsi tout effet de déplacement chimique. Il ne subsiste que l'atténuation de l'aimantation transversale due à T_2 .

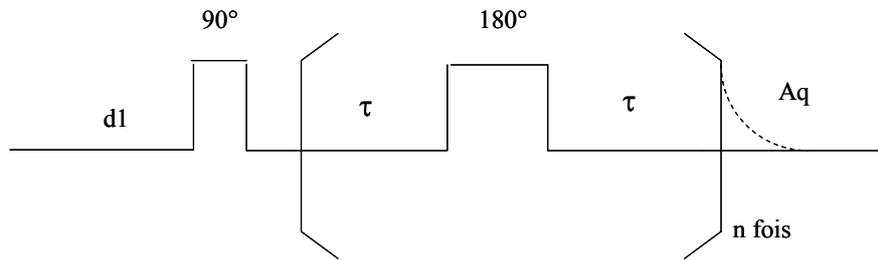


Figure 2 : Séquence Carr-Purcell et Meiboom-Gill de mesure du temps de relaxation transversale.

Le retour à l'équilibre est régi par l'équation suivante :

$$M_{x,y}(\tau) = M_0 \exp\left(-\frac{2n\tau}{T_2}\right)$$

De façon pratique, le temps τ est fixé à 1 ms et l'on fait varier le nombre de fois n où la séquence est répétée. n doit être pair pour diminuer les effets de diffusion translationnelle, et est ajusté de telle sorte que le temps de la sous-séquence $\tau-\pi-\tau$ varie entre 2 ms et $d1$. Le traitement s'effectue ensuite de façon similaire à celui de T_1 , par un ajustement à 3 paramètres.

- **Mesure de $T_{1\rho}$**

Le principal problème de la séquence de mesure de T_2 est que l'aimantation évolue selon le couplage scalaire J lorsque le noyau n'est pas isolé. Pour s'affranchir de ce problème, le temps de relaxation transversale peut être mesuré par verrouillage (spin-lock) le long du champ radiofréquence.

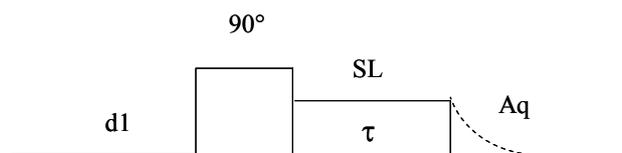


Figure 3 : Mesure du temps de relaxation transversale dans le repère tournant par spin-lock.

Après une impulsion classique à 90° , un champ radiofréquence B_1 est appliqué pendant un temps τ variable. L'aimantation précesse autour de B_1 et comme elle lui est colinéaire, elle reste fixe dans le champ tournant avec B_1 . L'aimantation est alors verrouillée.

En pratique, on fait varier τ entre quelques millisecondes et $d1$. Le traitement est ensuite similaire aux précédents car l'aimantation évolue selon l'équation suivante :

$$S(\tau) = S_0 \exp(-\tau/T_{1\rho})$$

La puissance du spin lock appliqué couvre 4 ppm à 500 MHz (spin-lock : 2000 Hz), 7 ppm à 400 MHz (spin-lock : 2800 Hz), et 3 ppm à 200 MHz (spin-lock : 600 Hz).

- **Solutions « type »**

Pour chaque complexe de Gd(III) étudié, les trois temps de relaxation ont été déterminés pour les protons de l'eau (H₂O ou HOD) et pour les protons d'une sonde : *ter*-butanol C(CH₃)₃OD ou méthanol (CH₃OH ou CH₃OD).

Les échantillons ont été préparés *in situ* en mélangeant des quantités appropriées de ligand et d'une solution mère de GdCl₃.6H₂O de concentration connue (dans H₂O milliQ ou dans D₂O extra-pure 99.99% d'atome D, Eurisotop). Le pH est ensuite ajusté à 7 environ avec une solution de soude (NaOH ou NaOD). L'absence de métal libre est vérifiée par le test au xylénol orange.^[10] La composition des échantillons est la suivante :

- **dans l'eau H₂O** : [Gd³⁺] = 4.0 mM, [ligand] = 4.4 mM, solvant : H₂O milliQ
- **dans l'eau HOD** : [Gd³⁺] = 4.0 mM, [ligand] = 4.4 mM, solvant : D₂O/H₂O 96/4
- **en présence de sonde *ter*-butanol** : [Gd³⁺] = 4.0 mM, [ligand] = 4.4 mM, [C(CH₃)₃OD] = 0.4 M, solvant : D₂O extra-pure
- **En présence de sonde méthanol** : [Gd³⁺] = 4.0 mM, [ligand] = 4.4 mM, [CH₃OH] = 0.4 M, solvant : D₂O extra-pure.

IV.3.3. Etude de la formation de complexes ternaires

- **Interaction avec les anions endogènes**

Des solutions mères (~2 M) de chaque anion (hydrogenophosphate de sodium, bicarbonate de potassium, lactate de sodium, oxalate de potassium, acétate de sodium et acide citrique) sont préparées en dissolvant une masse précise de chaque acide ou sel dans D₂O puis en le neutralisant à pH = 7.4 avec des solutions de KOD ou DCl. Les solutions du complexe de Gd(III) étudié en présence d'anions sont obtenues en mélangeant des volumes appropriés de solution de complexe (à pH = 7.4) et de la solution mère d'anion. La relaxivité du complexe étudié est mesurée à 200 MHz puis comparée à celle du même complexe dans D₂O au même pD.

Pour la détermination de la constante d'affinité apparente du complexe [Gd(dpaa)(D₂O)₃] pour le bicarbonate, une solution de [Gd(dpaa)(D₂O)₃]/bicarbonate de concentration connue dans D₂O a été titrée par une solution de [Gd(dpaa)(D₂O)₃] au même pD et de même concentration en Gd(III) ([Gd]_{tot} = 0.51 mM). La relaxivité à 200 MHz a été mesurée après chaque addition.

- **Etude de l'affinité avec l'Albumine de Sérum de Bœuf (BSA)**

La relaxivité des complexes de Gd(III) en présence de BSA 4.5 % (m/v) a été mesurée à 45 MHz. Les échantillons ont la composition suivante : [Gd³⁺] = 0.20 mM, [ligand] = 0.22 mM, [BSA] = 0.68 mM. Les solutions ont été préparées en dissolvant une masse précise de BSA (Fraction V, Sigma -Aldrich)

dans une solution mère de complexe de concentration connue (~0.2 mM). La relaxivité est comparée à celle du ligand dans l'eau au même pH après soustraction de la contribution diamagnétique de la BSA. Pour la détermination de la constante d'affinité du complexe $[Gd(dpa)(H_2O)_3]$ pour la BSA, six solutions de $[Gd(dpa)(H_2O)_3]$ ($[Gd^{3+}] = 0.21$ mM, $[dpa] = 0.23$ mM) dans l'eau milliQ à pH = 7.0 (après ajustement par une solution aqueuse de NaOH) ont été préparées à différentes concentrations en BSA (0-1.82 mM). Les temps de relaxation T_1 et T_2 ont été mesurés à 60 MHz et 25°C dans un électroaimant Drush commandé par une console Apollo tecmag.

- **Mesure de la relaxivité dans le sérum bovin**

La relaxivité des complexes de Gd(III) dans le sérum bovin (origine : Nouvelle-Zélande, Invitrogen) a été mesurée à 45 MHz. Les échantillons ont été préparés en dissolvant une quantité connue de complexe dans 1 mL de sérum bovin. Les échantillons ont la composition suivante : $[Gd^{3+}] = 0.20$ mM, $[ligand] = 0.22$ mM. La relaxivité est comparée à celle du ligand dans l'eau au même pH après soustraction de la contribution diamagnétique du sérum. Les temps de relaxation T_1 et T_2 ont été mesurés à 45 MHz et 25°C à l'aide d'un minispec BRUKER « mqvar » ND2318.

IV.3.4. Mesure de coefficients de diffusion

Cette mesure est effectuée par une séquence d'échos stimulés simples utilisant des gradients bipolaires et développée par Jerschow et Müller (Figure 4).^[11] Les gradients bipolaires permettent une atténuation plus lente du signal en T_1 plutôt qu'en T_2 .

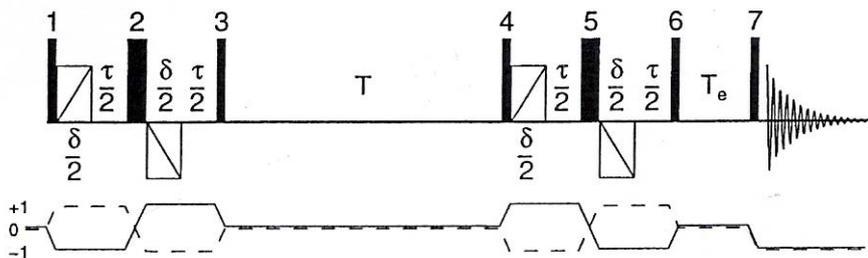


Figure 4 : Séquence d'échos stimulés pour la mesure de coefficients de diffusion.^[11]

En pratique, δ est relié au temps d'application du gradient, et T au temps de diffusion de la molécule

selon l'équation suivante : $\Delta = T + \frac{2}{3}\delta + \frac{3}{4}\tau$ où Δ est le temps de diffusion de la molécule.

L'atténuation du signal obéit à une loi exponentielle : $I = \exp(-D\gamma^2\delta^2\Delta^2G^2)$

où I est l'intensité du signal observé

D est le coefficient de diffusion de la molécule en $cm^2.s^{-1}$

γ est le rapport gyromagnétique du noyau considéré en $\text{rad}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{G}^{-1}$

G est le gradient variable appliqué en $\text{G}\cdot\text{cm}^{-1}$

Nous faisons varier le gradient entre 0 et 80% de sa valeur maximale. Ainsi la pente du graphique $\ln(I) = f(G^2)$ permet de trouver la valeur du coefficient de diffusion.

IV.4. Mesure des temps de relaxation de ^{17}O

Les mesures des temps de relaxation de ^{17}O ont été réalisées dans le cadre d'une collaboration avec le Pr. L. Helm de l'EPF Lausanne. Les échantillons ont été préparés en mélangeant des quantités appropriées de solutions de $\text{GdCl}_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ et de ligand dans l'eau. Un excès de ligand est utilisé et le pH est ajusté ($\text{pH}\sim 7$) avec une solution aqueuse de KOH. Des concentrations de Gd(III) de 5mM à 20 mM ont été utilisées. L'absence de métal libre est vérifiée par le test au xylénol orange à pH 6 environ.^[10] De l'eau acidifiée ($\text{pH} = 3.5$) a été utilisée comme référence. Tous les échantillons sont enrichis 1% avec de l'eau enrichie en ^{17}O (Isotrade GmbH, 20%) pour améliorer la sensibilité. La concentration en ion Gd(III) a été déterminée par mesure du déplacement chimique du *ter*-butanol induit par la susceptibilité magnétique.^[12]

Les vitesses de relaxation transversales et longitudinales de ^{17}O et les déplacements chimiques ont été mesurés entre 272 and 348 K. Les données ont été enregistrées sur un spectromètre Bruker DPX (9.4 T, 54.2 MHz). Une unité de contrôle de la température Bruker VT 3000 a été utilisée pour thermostatier l'échantillon. Sa température a été mesurée par une technique de substitution.^[13] Les échantillons ont été scellés dans des sphères en verre qui sont placées dans des tubes RMN de 10 mm de diamètre afin d'éliminer l'influence de la susceptibilité magnétique sur le déplacement chimique.^[14] Les vitesses de relaxation longitudinales $1/T_1$ ont été mesurées par la méthode d'Inversion-Récupération^[15] et les vitesses de relaxation transversales $1/T_2$ par la technique d'échos de spins de Carr-Purcell-Meiboom-Gill^[16]. Le support théorique nécessaire à l'interprétation des données est rappelé en Annexe 2.

IV.5. Relaxométrie

Les profils NMRD ont été obtenus à 25°C entre 0.02 et 40 MHz sur un relaxomètre RMN Spinmaster FFC (Fast Field Cycling) couvrant des champs magnétiques allant de $2.5\cdot 10^{-4}$ T à environ 1 T. Une séquence non polarisée (Figure 5) est utilisée pour les champs dont les fréquences varient entre 40 et 12 MHz, alors que pour les champs plus faibles, une séquence prépolarisée (Figure 6) est utilisée.

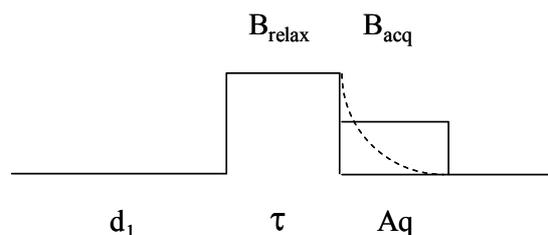


Figure 5 : Séquence de type non polarisée (fréquences entre 12 et 40 MHz).

La fréquence du champ d'acquisition (B_{acq}) est de 20.8 MHz, celle du champ de relaxation (B_{relax}) est variable et celle du champ de polarisation (B_{pol}) est de 28 ou 35 MHz. Le délai d_1 correspond à $4T_{1max}$ où T_{1max} est le temps de relaxation le plus long. Le temps de polarisation (t_{pol}) est fixé à 4 fois le T_1 du champ de polarisation B_{pol} . Le délai τ varie entre 0 et $4T_{1max}$.

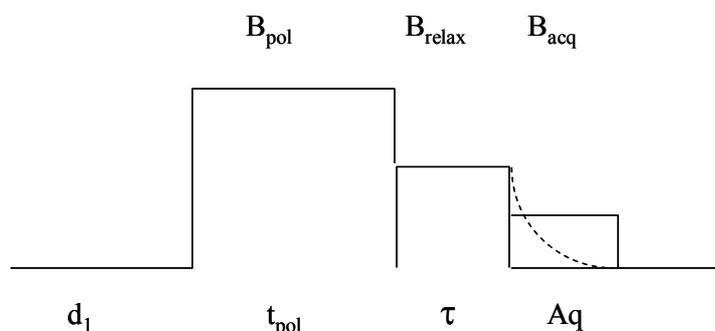


Figure 6 : Séquence pré-polarisée (entre 0.01 et 12 MHz).

Les profils NMRD de solutions aqueuses de complexes de Gd(III) dans l'eau milliQ, dans un mélange D_2O/H_2O 96/4, en présence de sondes méthanol ou *ter*-butanol et en présence de BSA ont été réalisés. Pour la description des échantillons, se référer aux paragraphes VIII.2. et VIII.3.

V. Cristallographie

Tous les cristaux ont été analysés à l'aide d'un diffractomètre Bruker SMART-CDD à trois cercles (radiation Mo- $K\alpha$, monochromateur graphite, $\lambda = 0,71073 \text{ \AA}$) piloté par le programme SMART 5.628. Pour éviter l'évaporation du solvant de cristallisation, l'acquisition est faite sous un courant d'azote à $-50 \text{ }^\circ\text{C}$.

Les paramètres de maille sont obtenus :

- par collecte des intensités de diffraction de trois séries de quinze images, avec un temps d'exposition approprié à la taille et la qualité des cristaux (10 s) ;

- à partir de toute la collecte si le temps d'exposition est élevé.

La distance entre le cristal et le détecteur est de 5 cm. Pour la collecte complète, 1271 images sont prises pour 3 positions de φ , avec des incréments de ω de $0,3^\circ$ couvrant une hémisphère ou un quadrant selon le groupe (Figure 7). A la fin de chaque collecte, les 50 premières images sont enregistrées à nouveau pour vérifier que le cristal n'a pas été détruit pendant celle-ci.

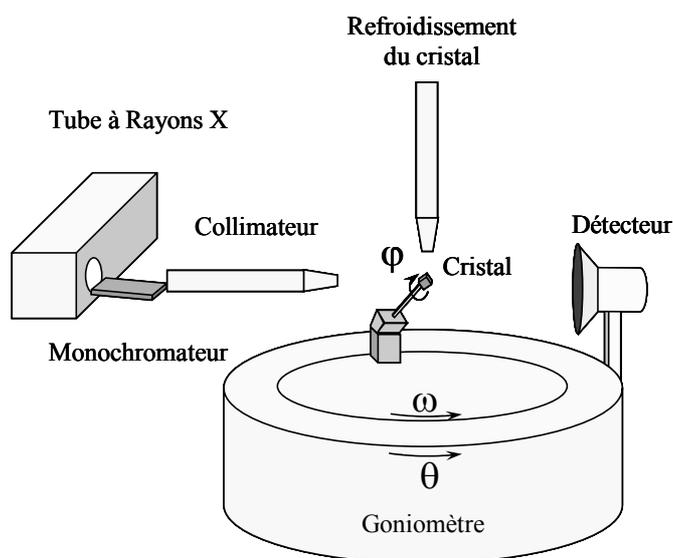


Figure 7 : Diffractomètre à trois cercles.

Les images sont traitées avec le programme SAINT 6.22 (Bruker)^[17] qui permet d'obtenir un fichier d'intensité. Sur toute la collecte, les raies uniques les plus intenses sont utilisées pour affiner les valeurs des paramètres de maille. Une correction d'absorption est réalisée à partir des raies équivalentes grâce au programme SADABS.^[18] Le groupe d'espace est déterminé par les raies éteintes et confirmé par la résolution de la structure. La résolution est d'abord effectuée par les méthodes directes (programme SHELXS 6.14 G).^[19] puis affinée ensuite par la méthode des moindres carrés sur les facteurs de structure. Tous les atomes à l'exception des hydrogènes, sont localisés par différence des transformées de Fourier et affinés anisotropiquement en F^2 . Les atomes d'hydrogène sont soit localisés par différence des transformées de Fourier et affinés isotropiquement, soit inclus dans des positions calculées. La validité du modèle est donnée par la valeur du résidu R_1 défini par :

$$R_1 = \frac{\sum \left| |F_{\text{observé}}| - |F_{\text{calculé}}| \right|}{\sum |F_{\text{observé}}|}$$

Les paramètres de résolution des structures cristallographiques sont donnés dans l'Annexe 5.

Bibliographie

- [1] R. Fornasier, D. Milani, P. Scrimin, U. Tonellato, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **1986**, 233.
- [2] H. C. Manning, M. Bai, B. M. Anderson, R. Lisiak, L. E. Samuelson, D. J. Bornhop, *Tet. Lett.* **2005**, 46, 4707.
- [3] J. P. Cross, P. G. Sammes, *J. Chem. Research* **2003**, 704.
- [4] S. Comby, D. Imbert, C. Vandevyver, J. C. Bünzli, *Chem. Eur. J.* **2007**, 13, 936.
- [5] A. E. Martell, R. J. Motekaitis, *Determination and use of stability constants*, VCH ed., **1992**.
- [6] P. Gans, A. Sabatini, A. Vacca, *Talanta* **1996**, 43, 1739.
- [7] J. C. D. Mello, H. F. Wittemann, R. H. Friend, *Adv. Mater.* **1997**, 9, 230.
- [8] K. Mikkelsen, S. O. Nielsen, *J. Chem. Phys.* **1960**, 64, 632.
- [9] H. E. Gottlieb, V. Kotlyar, A. Nudelman, *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 7512.
- [10] G. Brunisholz, M. Randin, *Helv. Chim. Acta* **1959**, 42, 1927.
- [11] A. Jerschow, N. Müller, *J. Magn. Reson.* **1997**, 125, 372.
- [12] D. M. Corsi, C. Platas-Iglesias, H. v. Bekkum, J. A. Peters, *Magn. Res. Chem.* **2001**, 39, 723.
- [13] C. Amman, P. Meier, A. E. Merbach, *J. Magn. Reson.* **1982**, 46, 319.
- [14] A. D. Hugi, L. Helm, A. E. Merbach, *Helv. Chim. Acta* **1985**, 68, 508.
- [15] R. L. Vold, J. S. Waugh, M. P. Klein, D. E. Phelps, *J. Chem. Phys.* **1968**, 48, 3831.
- [16] S. Meiboom, D. Gill, *Rev. Sci. Instrum.* **1958**, 29, 688.
- [17] Bruker, 6.22 ed., Madison, WI, USA, **1995**.
- [18] Bruker, Madison, WI, USA, **1995**.
- [19] M. Sheldrick, 6.14 ed., University of Göttingen, Germany, **2006**.

Annexes

Annexe 1 :

Détermination de q par la mesure des temps de vie de luminescence des complexes dans l'eau et dans D₂O

Cette méthode est basée sur la différence des vitesses de désactivation de la luminescence dans l'eau et dans le D₂O par les processus non radiatifs.

Le taux de désactivation global, qui est l'inverse du temps de vie, est donné par l'équation suivante :

$$k_{obs} = \frac{1}{\tau_{obs}} = k^r + \sum_n k_n^{nr} = k^r + \sum_i k_i^{vibr}(T) + \sum_j k_j^{tep}(T) + \sum_l k_l^{nr}(T) \quad \text{Equation 1. 1}$$

où k^r et k^{nr} sont les constantes de désactivation radiatives et non radiatives ; *vibr* désigne les processus de vibrations, *tep*, les transferts électroniques photoinduits et k^r est la constante associée à tous les autres processus de désactivation non radiatifs.

En séparant la contribution des oscillateurs O-H à la désactivation non radiative, l'Equation 1.1 devient :

$$k_{obs} = \frac{1}{\tau_{obs}} = k^r + \sum_n k_n^{nr} + k^{OH} \quad \text{Equation 1. 2}$$

Dans le D₂O, le terme k^{OH} peut être négligé. De plus, les vibrations O-D ne provoquent pas de désexcitation. Y. Haas et G. Stein ont montré que chaque oscillateur O-H agit indépendamment et que le terme k^{OH} est directement proportionnel au nombre de vibreurs O-H lié au métal, et donc au nombre de molécules d'eau liées q.^[1, 2] On obtient donc l'Equation 1.3 :

$$\Delta k = k_{H_2O} - k_{D_2O} = k^{OH} = A'q \text{ soit } q = A(k_{H_2O} - k_{D_2O}) \quad \text{Equation 1. 3}$$

où le coefficient A dépend de l'ion Ln(III) étudié.

Complexes avec les ions Tb(III) et Eu(III)

L'étude par cette méthode de nombreux complexes dont le nombre de molécules d'eau en première sphère de coordination est connu indépendamment par la structure à l'état solide a permis à W.D. Horrocks et D. R. Sudnick de déterminer les coefficients de proportionnalité A_{Eu} et A_{Tb} .^[3, 4] Cependant, des erreurs importantes sont observées pour les complexes dont la sphère de coordination est saturée car l'Equation 1.3 ne tient compte ni de l'influence des molécules d'eau présentes dans la seconde sphère de coordination, ni des contributions d'autres vibrations éventuelles (N-H ou C-H). Une étude plus récente, sur une plus grande quantité de complexe a été réalisée par A. Beeby et ses collaborateurs.^[5, 6] Des corrections sur les valeurs de Δk et A ont été proposées (Equation 1.4). L'erreur sur q est alors beaucoup plus faible (± 0.2).

$$q = A_{Ln}(k_{H_2O} - k_{D_2O} - a_{Ln}) \quad \text{Equation 1.4}$$

avec $A_{Tb} = 5 \text{ ms}$, $A_{Eu} = 1.2 \text{ ms}$, $a_{Tb} = 0.06 \text{ ms}^{-1}$ et $a_{Eu} = 0.25 \text{ ms}^{-1}$.

Complexes avec l'ion Yb(III)

L'Equation 1.4 est également valable pour les complexes avec l'ion Yb(III). Les coefficients A_{Yb} et a_{Yb} ont également été déterminés par A. Beeby et ses collaborateurs : $A_{Yb} = 1 \text{ }\mu\text{s}$ et a_{Yb} est compris entre 0.1 et $0.3 \text{ }\mu\text{s}^{-1}$.^[5]

Il faut noter qu'une relation similaire existe également pour les ions Nd(III),^[7] Sm(III) et Dy(III).^[8]

Toutefois, dans le cas du Nd(III), cette équation doit être utilisée avec précaution car elle est fortement influencée par la présence des vibrateurs C-H du ligand organique. Ainsi, cette méthode sera seulement appliquée à l'étude de complexes de Yb(III), Tb(III) et Eu(III).

Bibliographie

- [1] Y. Haas, G. Stein, *J. Phys. Chem.* 1971, 75, 3668.
- [2] Y. Haas, G. Stein, *J. Phys. Chem.* 1971, 75, 3677.
- [3] W. Horrocks, D. R. Sudnick, *J. Am. Chem. Soc.* 1979, 101, 334.
- [4] W. Horrocks, D. R. Sudnick, *Acc. Chem. Res.* 1981, 14, 384.
- [5] A. Beeby, I. M. Clarkson, R. S. Dickins, S. Faulkner, D. Parker, L. Royle, A. S. de Sousa, J. A. G. Williams, M. Woods, *J. Chem. Soc., Perkin Trans 2* 1999, 493.
- [6] R. S. Dickins, D. Parker, A. S. D. Sousa, J. A. G. Williams, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1996, 697.
- [7] S. Faulkner, A. Beeby, M. C. Carrie, A. Dadabhoy, A. M. Kenwright, P. G. Sammes, *Inorg. Chem. Commun.* 2001, 4, 187.
- [8] T. Kimura, Y. Kato, *J. Alloys & Compnds* 1995, 225, 284.

Annexe 2 :

Détermination de la vitesse d'échange des molécules d'eau en première sphère de coordination par l'étude de la relaxation de l'oxygène-17

Usuellement, cette vitesse est déterminée par la mesure du temps de relaxation transversale (T_2) de l'oxygène ^{17}O de l'eau, en présence et en absence d'agent paramagnétique, à différentes températures. Les mesures réalisées dans le cadre de ce travail ont fait l'objet d'une collaboration avec le Pr. L. Helm à l'EPF Lausanne. De l'eau enrichie ^{17}O à 1% à partir d'eau à 20% Isotrade GmbH a été utilisée afin d'améliorer la qualité du signal. Des solutions de complexes de concentrations connues (~20 mM) ont été préparées *in situ*. L'absence de métal libre est vérifiée par le test au xylénol orange^[1] et la concentration en Gd(III) est déterminée par la mesure de la susceptibilité magnétique du solvant par déplacement de la fréquence de résonance des protons du *ter*-butanol.^[2] Les temps de relaxation longitudinaux et les déplacements chimiques sont également mesurés, permettant ainsi une détermination indépendante du paramètre τ_R . Une solution d'eau acidifiée à pH 3.5 a été utilisée comme référence. Afin de s'affranchir des corrections de la susceptibilité sur le déplacement chimique, des échantillons sphériques ont été utilisés dans une sonde de 10 mm de diamètre.

Les vitesses de relaxation longitudinale et transversale réduites, respectivement $1/T_{1r}$ et $1/T_{2r}$, ainsi que le déplacement chimique réduit $\Delta\omega_r$ sont donnés par les équations de T. J. Swift et R. G. Connick.^[3] Elles sont détaillées ci-dessous (Equations 2.1 à 2.3). La contribution de sphère externe à la relaxivité longitudinale et transversale est négligée.^[4]

$$\frac{1}{T_{1r}} = \frac{1}{P_m} \left[\frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_{1d}} \right] = \frac{1}{T_{1m} + \tau_m} \quad \text{Equation 2. 1}$$

$$\frac{1}{T_{2r}} = \frac{1}{P_m} \left[\frac{1}{T_2} - \frac{1}{T_{2d}} \right] = \frac{1}{\tau_m} \frac{T_{2m}^{-2} + \tau_m^{-1} T_{2m}^{-1} + \Delta\omega_m^2}{(\tau_m^{-1} + T_{2m}^{-1})^2 + \Delta\omega_m^2} \quad \text{Equation 2. 2}$$

$$\Delta\omega_r = \frac{1}{P_m} (\omega - \omega_d) = \frac{\Delta\omega_m}{(1 + \tau_m T_{2m}^{-1})^2 + \tau_m^2 \Delta\omega_m^2} \quad \text{Equation 2. 3}$$

Avec :

- P_m la fraction molaire de molécules de solvant en première sphère de coordination ;
- T_i les temps de relaxation longitudinale ($i = 1$) et transversale ($i = 2$) de l' ^{17}O des molécules d'eau en présence d'espèce paramagnétique ;
- T_{id} les temps de relaxation de l' ^{17}O des molécules d'eau de la référence diamagnétique;
- T_{im} les temps de relaxation de l' ^{17}O des molécules d'eau liées au centre métallique ;
- ω le déplacement chimique de l' ^{17}O en présence d'espèce paramagnétique ;
- ω_d le déplacement chimique de l' ^{17}O pour la référence diamagnétique ;
- $\Delta\omega_m$ la contribution des molécules d'eau en première sphère de coordination ;
- $\Delta\omega_{os}$ la contribution de sphère externe au déplacement chimique, souvent négligée.
-

Le déplacement chimique $\Delta\omega_m$

La contribution de sphère interne au déplacement chimique $\Delta\omega_m$ est donnée par le déplacement chimique des molécules d'eau liées, déterminé par le couplage hyperfin entre le spin électronique du Gd(III) et le spin nucléaire du noyau ^{17}O (Equation 2. 4) :

$$\Delta\omega_m = \frac{g_L \mu_B S(S+1) B_0}{3k_B T} \frac{A}{h} \quad \text{Equation 2. 4}$$

où g_L est le facteur de Landé, μ_B le magnéton de Bohr et B_0 le champ magnétique extérieur.

La contribution de sphère externe, quand elle n'est pas négligée, adopte une loi de variation en fonction de la température similaire à celle de $\Delta\omega_m$. Ainsi, elle sera exprimée proportionnellement à $\Delta\omega_m$:

$$\Delta\omega_{os} = C_{os} \Delta\omega_m \quad \text{Equation 2. 5}$$

où C_{os} est une constante empirique ($0 < C_{os} < 0.1$).

La vitesse de relaxation longitudinale $1/T_{1m}$

La vitesse de relaxation longitudinale de l' ^{17}O des molécules d'eau liées est dominée par les interactions dipôle-dipôle et quadripolaires ($I = 5/2$). Elle est décrite par l'Equation 2. 6 :

$$\frac{1}{T_{1m}} = \left[\frac{1}{15} \left(\frac{\mu_0}{4\pi} \right) \frac{\hbar^2 \gamma_I^2 \gamma_S^2}{r_{GdO}^6} S(S+1) \right] \times 6\tau_{d1} + \frac{3\pi^2}{10} \frac{2I+3}{I^2(2I-1)} \chi^2 \left(1 + \frac{\eta^2}{3} \right) \tau_R \quad \text{Equation 2. 6}$$

Avec :

- γ_I le rapport gyromagnétique nucléaire de l'oxygène-17 ;
- r_{GdO} la distance moyenne Gd(III)-O ;
- I le nombre quantique de spin nucléaire ($I = 5/2$) ;
- χ la constante de couplage quadripolaire ;

- η un paramètre lié au défaut de symétrie axiale du noyau ;
- τ_{d1} est le temps de corrélation relatif à la dynamique du couplage dipolaire. Il est exprimé par l'Equation 2.7.

$$\frac{1}{\tau_{d1}} = \frac{1}{T_{1e}} + \frac{1}{\tau_R} + \frac{1}{\tau_m} \quad \text{Equation 2. 7}$$

La distance moyenne r_{GdO} a été estimée à partir de l'étude des structures cristallographiques d'une série de complexes de Gd(III).^[5] De la même manière que pour la distance Gd(III)-proton, la distance Gd(III)-O peut être considérée comme indépendante du complexe étudié et égale à 2.5 Å. Les paramètres χ et η sont également fixés, en considérant que la constante de couplage quadripolaire est égale à celle de l'eau acidifiée (Equation 2.8).^[6]

$$\chi \left(1 + \frac{\eta^2}{3} \right)^{1/2} = 7.58 \text{ MHz} \quad \text{Equation 2. 8}$$

La vitesse de relaxation transversale $1/T_{2m}$

La relaxation transversale provient principalement de l'interaction scalaire entre le Gd(III) et l'oxygène du solvant. Elle est décrite par l'Equation 2.9 :

$$\frac{1}{T_{2m}} = \frac{S(S+1)}{3} \left(\frac{A}{\hbar} \right)^2 \times \tau_{1s} \quad \text{Equation 2. 9}$$

Avec

- A/\hbar est la constante de couplage scalaire (ou hyperfin) entre l'oxygène et le Gd(III) ;
- τ_{1s} le temps de corrélation associé au couplage, définis selon l'Equation 2.10 :

$$\frac{1}{\tau_{1s}} = \frac{1}{T_{1e}} + \frac{1}{\tau_m} \quad \text{Equation 2. 10}$$

Les T_{1e} sont donnés par la théorie de Bloembergen et Morgan, selon les équations décrites en introduction. Elles sont rappelées ci-dessous (Equations 2.11 et 2.12).

$$\frac{1}{T_{1e}} = 2C \left(\frac{1}{1 + \omega_S^2 \tau_v^2} + \frac{4}{1 + 4\omega_S^2 \tau_v^2} \right) \quad \text{Equation 2. 11}$$

$$C = \frac{1}{50} \Delta^2 \tau_v [4S(S+1) - 3] \quad \text{Equation 2. 12}$$

avec, Δ^2 représentant le carré de l'énergie associée à la levée de dégénérescence à champ nul (ZFS) et τ_v le temps de corrélation associé à la modulation vibratoire du ZFS.

Les dépendances de τ_M et τ_V en fonction de la température sont données respectivement par les équations d'Eyring (Equation 2.13) et d'Arrhénius (Equation 2. 14).

$$\frac{1}{\tau_m} = k_{ex} = \frac{k_B T}{h} \exp\left[\frac{\Delta S^\ddagger}{R} - \frac{\Delta H^\ddagger}{RT}\right] = \frac{k_{ex}^{298} T}{298.15} \exp\left[\frac{\Delta H^\ddagger}{R} \left(\frac{1}{298.15} - \frac{1}{T}\right)\right] \quad \text{Equation 2. 13}$$

où k_{ex}^{298} est la vitesse d'échange à 298.15 K ; ΔS^\ddagger et ΔH^\ddagger sont l'entropie et l'enthalpie d'activation du processus d'échange.

$$\tau_v = \tau_v^{298} \exp\left[\frac{E_v}{R} \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{298.15}\right)\right] \quad \text{Equation 2. 14}$$

où τ_v^{298} est le temps de corrélation à 298.15 K et E_v l'énergie d'activation.

Bibliographie

- [1] G. Brunisholz, M. Randin, *Helv. Chim. Acta* 1959, 42, 1927.
- [2] D. M. Corsi, C. Platas-Iglesias, H. van Bekkum, J. A. Peters, *Magn. Res. Chem.* 2001, 39, 723.
- [3] T. J. Swift, R. E. Connick, *J. Chem. Phys.* 1962, 37, 307.
- [4] K. Micskei, L. Helm, E. Brucher, A. E. Merbach, *Inorg. Chem.* 1993, 32, 3844.
- [5] M.-R. Spirlet, J. Rebizant, M.-F. Loncin, J. F. Desreux, *Inorg. Chem.* 1984, 1984, 4278.
- [6] B. Halle, H. Wennerstrom, *J. Chem. Phys* 1981, 75, 1928.

Annexe 3 :

Description théorique approchée de la relaxation électronique par fluctuation de « Zero Field Splitting »

Une description théorique générale de la relaxation électronique tenant compte des fluctuations du ZFS statique est difficile à mettre en œuvre. Cependant, P. H. Fries et E. Belorizky ont récemment précisé le cadre théorique permettant l'interprétation rationnelle des profils NMRD expérimentaux.^[1-3] Ils ont aussi proposé des expressions simples de la vitesse de relaxation électronique longitudinale validées par des simulations numériques Monte-Carlo. Ainsi, pour des champs suffisamment élevés ($B_0 \geq 0.2$ T), la contribution à la vitesse de relaxation électronique due à la rotation du complexe est donnée par l'expression analytique $1/T_{1e}^{\text{analyt}}$:

$$\frac{1}{T_{1e}^{\text{analyt}}} \equiv \frac{12}{5} a_2^2 \tau_R \left(\frac{1}{1 + \omega_S^2 \tau_R^2} + \frac{4}{1 + 4\omega_S^2 \tau_R^2} \right) \quad \text{Equation 3. 1}$$

Avec

- a_2 l'amplitude du ZFS statique ;
- τ_R le temps de corrélation rotationnelle du complexe (de coefficient de diffusion rotationnelle associé D^R) ;
- ω_S la pulsation de Larmor du spin électronique.

On pose $1/T_{1e}(B_0 = 0) \equiv 1/\tau_{S0}^{\text{eff}}$, le taux de relaxation électronique effectif en champ nul. La relaxation électronique peut être exprimée par l'Equation 3. 2, encore valable à très bas champ ($B_0 \rightarrow 0$).

$$\frac{1}{T_{1e}} = \frac{1}{\tau_{S0}^{\text{eff}}} \tanh \left[\left(\frac{1}{T_{1e}^{\text{analyt}}} \right) / \left(\frac{1}{\tau_{S0}^{\text{eff}}} \right) \right] \quad \text{Equation 3. 2}$$

Quand B_0 augmente $1/T_{1e}^{\text{analyt}}$ décroît rapidement à cause de sa dispersion en champ en $(\omega_S \tau_R)^{-2}$ et devient nettement plus faible que $1/\tau_{S0}^{\text{eff}}$, de sorte que l'égalité attendue $1/T_{1e} \cong 1/T_{1e}^{\text{analyt}}$ est valable. De plus, $1/T_{1e}$ tend continûment vers $1/\tau_{S0}^{\text{eff}}$ quand B_0 tend vers 0. Il est possible d'accéder à la valeur de τ_{S0} à partir de l'analyse de la relaxation électronique des protons des molécules d'eau, en présence d'une sonde de sphère externe (de type $(\text{CH}_3)_3\text{OD}$) et dans l'eau pure, à champ faible.

En effet, le temps de relaxation électronique T_{1e}^{analyt} est déduit de l'étude de la relaxivité de sphère externe de la sonde étudiée. Comme nous l'avons vu en introduction, la relaxivité de sphère externe dépend du coefficient de diffusion translationnelle relative D , du diamètre de collision b et des temps de relaxation électronique T_{1e} et T_{2e} (Equations I.12 et I.13). En champ nul, les relaxivités électroniques longitudinale et transversale sont égales. La relaxivité de sphère externe en champ nul dépend donc des cinq paramètres : D , b , $1/\tau_{S0}^{\text{eff}}$, a_2 et τ_R .

Son expression est donnée par l'équation suivante :

$$r_1^{\text{OS}}(B_0 = 0) = \frac{16\pi}{3} \gamma_I^2 \gamma_H^2 \hbar^2 S(S+1) \frac{10^{-6} N}{Db} \frac{4 + x_0}{3(9 + 9x_0 + 4x_0^2 + x_0^3)} \quad \text{Equation 3. 3}$$

avec $x_0 \equiv \sqrt{\tau/\tau_{S0}^{\text{eff}}}$

Le coefficient de diffusion translationnelle relative D correspond à la somme des coefficients de diffusion absolue (c'est-à-dire par rapport au référentiel fixe du laboratoire), de la sonde et du soluté. Le coefficient de diffusion absolu du complexe GdL est égal à celui de son analogue diamagnétique LuL. Il est mesuré à partir d'une séquence spin-écho avec des gradients pulsés (voir partie expérimentale). Le diamètre de collision b entre le soluté sonde et le complexe est estimé à partir de modèles moléculaires compacts. Le temps de relaxation électronique effectif en champ nul τ_{S0}^{eff} est ainsi déterminé à partir de l'étude de la relaxivité r_1^{OS} de la sonde. C'est le seul paramètre ajustable.

Notons que pour les complexes de Gd(III) dans l'eau, x_0 est proche de l'unité, de sorte que $r_1^{\text{OS}}(B_0 = 0)$ est approximativement inversement proportionnel à b . Toute imprécision sur b va donc directement affecter la valeur de $1/\tau_{S0}^{\text{eff}}$. Il est possible de s'affranchir du paramètre b en effectuant le rapport des relaxivités de sphère externe à bas champ ($B_0 \rightarrow 0$) et à un haut champ B_{0h} judicieusement choisi ($B_{0h} \geq 4 - 5T$, 200 MHz environ).

A ce champ, trois approximations peuvent être faites :

- $\omega_I \gg 1/T_{1e}$ car $1/T_{1e}$ décroît rapidement avec le champ.^[2]
- $\omega_S \gg 1/\tau_{S0}^{\text{eff}} \geq 1/T_{2e}$ car $1/\tau_{S0}^{\text{eff}}$ est typiquement de l'ordre de grandeur de 10^{10} s^{-1} .^[4] Les

valeurs des densités spectrales de l'équation I.12 vue en introduction peuvent être exprimées approximativement de la façon suivante :

$$j\left(\frac{1}{T_{1e}} + i\omega_I\right) \cong j(i\omega_I) \text{ et } j\left(\frac{1}{T_{2e}} + i\omega_S\right) \cong j(i\omega_S) \quad \text{Equation 3. 4}$$

- De plus, $\omega_S \tau \gg \omega_I \tau$; $\omega_S \tau \gg 1$ donc $j(i\omega_S) \ll j(i\omega_I)$.

L'expression de la relaxivité de sphère externe à haut champ peut alors être exprimée ainsi :

$$r_1^{OS}(B_{0h}) = \frac{8\pi}{5} \gamma_I^2 \gamma_H^2 \hbar^2 S(S+1) j(i\omega_I(B_{0h})) \quad \text{Equation 3. 5}$$

Le rapport des relaxivités de sphère externe en champ nul et à haut champ q_1^{OS} est défini selon l'Equation 3. 6 :

$$q_1^{OS} \equiv \frac{3}{10} \frac{r_1^{OS}(B_0 = 0)}{r_1^{OS}(B_{0h})} \quad \text{Equation 3. 6}$$

On pose $x_0 \equiv \sqrt{\tau/\tau_{S0}^{eff}}$, $x_h \equiv \sqrt{i\omega_I \tau}$ et $x_h \equiv \sqrt{i\omega_I(B_{0h})}$. En considérant les équations 3. 5 et 3. 4, l'expression de q_1^{OS} se simplifie de la façon suivante :

$$q_1^{OS} = \left[\frac{4 + x_0}{9 + 9x_0 + 4x_0^2 + x_0^3} \right] / \text{Re} \left[\frac{4 + x_h}{9 + 9x_h + 4x_h^2 + x_h^3} \right] \quad \text{Equation 3. 7}$$

Ainsi, valeur de $1/\tau_{S0}^{eff}$ peut être ajustée de façon indépendante à partir du rapport de relaxivité théorique q_1^{OS} . En pratique, nous avons effectué cet ajustement sur trois rapports différents en mesurant la relaxivité aux fréquences de Larmor du proton de 200, 400 et 500 MHz.

Bibliographie

- [1] P. H. Fries, E. Belorizky, *J. Chem. Phys.* 2007, 126, 204503.
- [2] P. H. Fries, E. Belorizky, *J. Chem. Phys.* 2005, 123.
- [3] E. Belorizky, P. H. Fries, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2004, 6, 2341.
- [4] P. Caravan, J. J. Ellison, T. J. McMurry, R. B. Lauffer, *Chem. Rev.* 1999, 99, 2293.

Annexe 4 :

Détermination des rendements quantiques en solution

Le rendement quantique de fluorescence de l'ion Ln(III), ϕ_{tot}^{Ln} , est défini par le rapport du nombre de photons émis sur le nombre de photons absorbés. Il correspond à la probabilité d'un état excité de se désactiver par fluorescence plutôt que de manière non-radiative.

La technique utilisée au laboratoire est la méthode comparative initialement décrite par A. Williams et al.^[1] Elle est basée sur le postulat suivant : si deux solutions de composés x et r respectivement ont la même absorbance à la longueur d'onde λ , elles absorbent le même nombre de photons. De ce fait, la comparaison de l'intégration de leurs spectres d'émission permet d'accéder au rapport de leurs rendements quantiques par l'équation suivante :

$$\frac{(\phi_{tot}^{Ln})_x}{(\phi_{tot}^{Ln})_r} = \frac{A_r(\lambda) n_x^2 I_x}{A_x(\lambda) n_r^2 I_r} \quad \text{Equation 4. 1}$$

où x et r désignent respectivement l'échantillon et la référence ; $A(\lambda)$ correspond à l'absorbance de l'échantillon considéré à la longueur d'onde d'excitation λ , n l'indice de réfraction du solvant utilisé et I l'intensité émise. Cette dernière est obtenue par l'intégration de la totalité du spectre d'émission.

Cette relation n'est valable que si les spectres d'émission sont mesurés dans les mêmes conditions, c'est-à-dire avec des longueurs d'onde d'excitation suffisamment proches pour considérer que l'intensité de la lumière incidente est la même ($\Delta\lambda_{ex} < 30$ nm) et avec les mêmes réglages du spectromètre (fentes d'excitation et d'émission, délais, temps d'acquisition).

Nous avons utilisé des solutions dont les absorbances sont aussi proches que possible pour la référence et l'échantillon. De plus, des absorbances de l'ordre de 0.05 ont été choisies afin d'éviter tout phénomène de filtre interne lié à la réabsorption d'une partie de la lumière émise par une molécule voisine. Pour nos systèmes, ces valeurs d'absorbance sont obtenues pour des concentrations en complexe voisines de $2 \cdot 10^{-6}$ M. Notons que les études potentiométriques effectuées préalablement ont montré l'absence de dissociation des complexes dans ces conditions.

Des fonctions de correction d'excitation et d'émission ont été appliquées pour corriger la réponse de la lampe, du détecteur et de l'optique afin que l'intensité mesurée soit proportionnelle au nombre de photons. Ces fonctions de correction dépendent de l'appareillage utilisé.

Des références internes au laboratoire^[2] ont été utilisées ainsi que les complexes $[\text{Tb}(\text{dpa})_3]^{3-}$ et $[\text{Eu}(\text{dpa})_3]^{3-}$ avec le ligand dipicolinate (dpa). Le rendement quantique précis de ces dernières références dépend de la concentration de l'échantillon due à la spéciation entre les complexes bis-dpa et tris-dpa^[3,4]. Les valeurs de leurs rendements quantiques sont récapitulées dans le tableau ci-dessous.

	ϕ_{tot}^{Eu} (%)	ϕ_{tot}^{Tb} (%)
$[\text{Ln}(\text{dpa})_3]^{3-}$ (A = 0.026)	11.8	21.0
$[\text{Ln}(\text{dpa})_3]^{3-}$ (A = 0.082)	12.5	24.3
$[\text{Ln}(\text{tpaen})]^-$	7.0 ± 0.7	45 ± 5
$[\text{Ln}(\text{bpeda})]^-$	3.2 ± 0.3	29 ± 3

Tableau 4.1 : Rendements quantiques des solutions de complexes utilisées comme références (pH = 7.4, tampon TRIS, 25°C).

Les rendements quantiques des références internes au laboratoire ont eux-mêmes été mesurées à partir des complexes formés avec le ligand dpa et par rapport à des chromophores organiques de référence : le violet de crésyl (54 ± 3 %, dans le méthanol)^[5] et la rhodamine (100 ± 2 %, dans l'éthanol).^[6] De plus, les valeurs ont également été mesurées par l'équipe du professeur J.C Bünzli de l'EPF Lausanne, pour vérification.

Etant donné le grand nombre de paramètres intervenant dans le calcul du rendement quantique, l'erreur communément admise sur les valeurs obtenues par cette méthode a été estimée à 20% environ.

Bibliographie

- [1] A. T. R. Williams, S. A. Winfeld, J. N. Miller, *Analyst* **1983**, 108, 1067.
- [2] N. Chatterton, Y. Bretonnière, M. Mazzanti, J. Pécaut, *Angew. Chem. int. Ed* **2005**, 44, 7595.
- [3] J. C. G. Bünzli, in *Metal Ions in Biological Systems, Vol 42: Metal Complexes in Tumor Diagnosis and as Anticancer Agents, Vol. 42*, **2004**, pp. 39.
- [4] A. S. Chauvin, F. Gumy, D. Imbert, J. C. G. Bünzli, *Spectrosc. Lett.* **2004**, 37, 517.
- [5] D. F. Eaton, *Pure Appl. Chem.* **1988**, 60, 1107.
- [6] S. R. Meech, D. C. Phillips, *J. Photochem.* **1983**, 23, 193.

Annexe 5 :

Données cristallographiques

Table 1. Crystal data and structure refinement for [H₅bpatcn]Cl₂· H₂O

Empirical formula	C ₂₂ H ₂₆ N ₅ O ₇ Cl ₂	
Formula weight	602.47	
Temperature	298(2) K	
Wavelength	0.71073 Å	
Crystal system	Triclinic	
Space group	P-1	
Unit cell dimensions	a = 10.1680(18) Å	α = 81.371(3)°
	b = 12.361(2) Å	β = 73.748(3)°
	c = 12.692(2) Å	γ = 66.954(3)
Volume, Z	1407.8(4) Å ³ , 2	
Density (calculated)	1.421 Mg/m ³	
Absorption coefficient	0.292 mm ⁻¹	
F(000)	636	
Crystal size	0.30 x 0.10 x 0.08 mm	
Theta range for data collection	1.79 to 23.26°	
Limiting indices	-10 ≤ h ≤ 11, -13 ≤ k ≤ 11, -12 ≤ l ≤ 14	
Reflections collected	6345	
Independent reflections	3986 [R(int) = 0.0093]	
Refinement method	Full-matrix least-squares on F ²	
Data / restraints / parameters	3986 / 5 / 517	
Goodness-of-fit on F ²	1.069	
Final R indices [I > 2σ(I)]	R ₁ = 0.0300, wR ₂ = 0.0754	
R indices (all data)	R ₁ = 0.0338, wR ₂ = 0.0775	
Largest diff. peak and hole	0.200 and -0.208 e.Å ⁻³	

Table 2. Crystal data and structure refinement for [Lu(dpaa)(H₂O)₂] · 2 H₂O

Empirical formula	C ₁₆ H ₂₀ Lu N ₃ O ₁₀	
Formula weight	589.32	
Temperature	223(2) K	
Wavelength	0.71073 Å	
Crystal system	Monoclinic	
Space group	P2(1)/n	
Unit cell dimensions	a = 8.499(8) Å	$\alpha = 90^\circ$
	b = 13.470(13) Å	$\beta = 94.867(17)^\circ$
	c = 16.467(16) Å	$\gamma = 90^\circ$
Volume, Z	1878(3) Å ³ , 4	
Density (calculated)	2.084 Mg/m ³	
Absorption coefficient	5.319 mm ⁻¹	
F(000)	1152	
Crystal size	0.30 x 0.04 x 0.04 mm	
Theta range for data collection	1.96 to 26.36°	
Limiting indices	-7 ≤ h ≤ 10, -15 ≤ k ≤ 16, -20 ≤ l ≤ 17	
Reflections collected	7309	
Independent reflections	3426 [R(int) = 0.0332]	
Refinement method	Full-matrix least-squares on F ²	
Data / restraints / parameters	3426 / 0 / 271	
Goodness-of-fit on F ²	1.166	
Final R indices [I > 2σ(I)]	R ₁ = 0.0664, wR ₂ = 0.1367	
R indices (all data)	R ₁ = 0.0761, wR ₂ = 0.1408	
Largest diff. peak and hole	2.939 and -2.553 e.Å ⁻³	

Table 3. Crystal data and structure refinement for

Empirical formula	C ₆₅ H ₈₉ Gd ₄ n ₁₂ Na ₃ O ₄₅	
Formula weight	1228.23	
Temperature	223(2) K	
Wavelength	0.71073 Å	
Crystal system	Triclinic	
Space group	P-1	
Unit cell dimensions	a = 12.4405(17) Å	α = 83.439(2)°
	b = 13.6247(18) Å	β = 66.688(2)°
	c = 14.3102(19) Å	γ = 80.559(2)°
Volume, Z	2194.1(5) Å ³ , 2	
Density (calculated)	1.859 Mg/m ³	
Absorption coefficient	3.101 mm ⁻¹	
F(000)	1212	
Crystal size	0.40 x 0.30 x 0.10 mm	
Theta range for data collection	2.11 to 28.30°	
Limiting indices	-16 ≤ h ≤ 9, -18 ≤ k ≤ 16, -18 ≤ l ≤ 13	
Reflections collected	14262	
Independent reflections	9973 [R(int) = 0.0217]	
Max. and min. transmission	0.7467 and 0.3701	
Refinement method	Full-matrix least-squares on F ²	
Data / restraints / parameters	9973 / 0 / 726	
Goodness-of-fit on F ²	1.021	
Final R indices [I > 2σ(I)]	R ₁ = 0.0320, wR ₂ = 0.0751	
R indices (all data)	R ₁ = 0.0423, wR ₂ = 0.0794	
Largest diff. peak and hole	1.114 and -0.776 e.Å ⁻³	

Table 4. Crystal data and structure refinement for [Nd(thqtcn)]

Empirical formula	C ₃₆ H ₃₃ N ₆ Nd O ₃	
Formula weight	741.92	
Temperature	293(2) K	
Wavelength	0.71073 Å	
Crystal system	Monoclinic	
Space group	P2(1)/c	
Unit cell dimensions	a = 11.701(2) Å	$\alpha = 90^\circ$
	b = 33.114(6) Å	$\beta = 108.902(7)^\circ$
	c = 8.1031(17) Å	$\gamma = 90^\circ$
Volume, Z	2970.4(10) Å ³ , 4	
Density (calculated)	1.659 Mg/m ³	
Absorption coefficient	1.798 mm ⁻¹	
F(000)	1500	
Crystal size	0.10 x 0.10 x 0.04 mm	
Theta range for data collection	1.84 to 29.04°	
Limiting indices	$-15 \leq h \leq 15, -9 \leq k \leq 44, -10 \leq l \leq 9$	
Reflections collected	9681	
Independent reflections	5417 [R(int) = 0.0193]	
Refinement method	Full-matrix least-squares on F ²	
Data / restraints / parameters	5417 / 0 / 547	
Goodness-of-fit on F ²	1.236	
Final R indices [I > 2sigma(I)]	R ₁ = 0.0408, wR ₂ = 0.0717	
R indices (all data)	R ₁ = 0.0503, wR ₂ = 0.0738	
Largest diff. peak and hole	1.017 and -1.637 e.Å ⁻³	

Table 5. Crystal data and structure refinement for $\{[\text{Nd}(\text{H}_{3/2}\text{thqtcn})]^{3/2+}\}_2, 3 \text{ OTf}^-, 3 \text{ MeOH}$

Empirical formula	C78 H78 F9 N12 Nd2 O18 S3	
Formula weight	2035.25	
Temperature	223(2) K	
Wavelength	0.71073 Å	
Crystal system	Triclinic	
Space group	P-1	
Unit cell dimensions	$a = 12.9868(19) \text{ Å}$	$\alpha = 89.995(3)^\circ$
	$b = 13.748(2) \text{ Å}$	$\beta = 74.878(2)^\circ$
	$c = 23.950(4) \text{ Å}$	$\gamma = 77.080(3)^\circ$
Volume, Z	$4016.0(10) \text{ Å}^3, 2$	
Density (calculated)	1.683 Mg/m^3	
Absorption coefficient	1.456 mm^{-1}	
F(000)	2062	
Crystal size	0.50 x 0.50 x 0.20 mm	
Theta range for data collection	1.81 to 29.15°	
Limiting indices	$-17 \leq h \leq 17, -11 \leq k \leq 17, -30 \leq l \leq 32$	
Reflections collected	26178	
Independent reflections	18356 [R(int) = 0.0142]	
Max. and min. transmission	0.7595 and 0.5297	
Refinement method	Full-matrix-block least-squares on F^2	
Data / restraints / parameters	18356 / 0 / 1522	
Goodness-of-fit on F^2	1.026	
Final R indices [$I > 2\sigma(I)$]	$R_1 = 0.0290, wR_2 = 0.0711$	
R indices (all data)	$R_1 = 0.0376, wR_2 = 0.0748$	
Largest diff. peak and hole	0.990 and -0.726 e.Å ⁻³	

Table 6. Crystal data and structure refinement for $\{[\text{Yb}(\text{H}_{3/2}\text{thqtcn})]^{3/2+}\}_2, 3 \text{ OTf}^-, 3 \text{ MeOH}$

Empirical formula	C ₇₈ H ₇₈₁ F ₉ N ₁₂ O ₁₈ S ₃ Yb ₂	
Formula weight	2087.81	
Temperature	293(2) K	
Wavelength	0.71073 Å	
Crystal system	Triclinic	
Space group	P-1	
Unit cell dimensions	a = 12.886(4) Å	$\alpha = 88.664(5)^\circ$
	b = 13.706(4) Å	$\beta = 75.218(6)^\circ$
	c = 23.811(8) Å	$\gamma = 76.223(5)^\circ$
Volume, Z	3946(2) Å ³ , 2	
Density (calculated)	1.757 Mg/m ³	
Absorption coefficient	2.535 mm ⁻¹	
F(000)	2092	
Crystal size	0.30 x 0.10 x 0.06 mm	
Theta range for data collection	1.69 to 23.29°	
Limiting indices	$-14 \leq h \leq 14, -15 \leq k \leq 15, -26 \leq l \leq 20$	
Reflections collected	17485	
Independent reflections	11171 [R(int) = 0.0260]	
Max. and min. transmission	0.8627 and 0.5167	
Refinement method	Full-matrix least-squares on F ²	
Data / restraints / parameters	11171 / 0 / 1449	
Goodness-of-fit on F ²	1.090	
Final R indices [I > 2σ(I)]	R ₁ = 0.0408, wR ₂ = 0.1080	
R indices (all data)	R ₁ = 0.0456, wR ₂ = 0.1115	
Largest diff. peak and hole	2.574 and -1.190 e.Å ⁻³	

Publications

Lanthanide Complexes of a Picolinate Ligand Derived from 1,4,7-Triazacyclononane with Potential Application in Magnetic Resonance Imaging and Time-Resolved Luminescence Imaging

Aline Nonat, Christelle Gateau, Pascal H. Fries, and Marinella Mazzanti*^[a]

Abstract: The new potentially octadentate ligand, 1-(carboxymethyl)-4,7-bis[(6-carboxypyridin-2-yl)methyl]-1,4,7-triazacyclononane ($H_3bpatcn$), in which two picolinate arms and one acetate arm are connected to the 1,4,7-triazacyclononane core, has been prepared. Potentiometric studies show an increased stability of the Gd^{III} complex of $H_3bpatcn$ ($\log K_{GdL} = 15.8(2)$) with respect to the Gd^{III} complex of the analogous ligand 1,4,7-triazacyclononane- N,N',N'' -triacetic acid (H_3nota) ($\log K_{GdL} = 13.7$), associated with an increased selectivity of $H_3bpatcn$ for gadolinium over calcium. The $H_3bpatcn$ ligand sensitises the terbium ion very efficiently, leading to a long-lived and highly luminescent terbium complex

(quantum yield = 43%), in spite of the presence of a coordinated water molecule. 1H proton NMR studies indicate that the metal ion is rigidly encapsulated by the three arms of the octadentate ligand $H_3bpatcn$ and that the macrocycle framework remains bound (through the five nitrogen and the three oxygen atoms) even at high temperature. A new theoretical method for interpreting the water proton relaxivity is presented. It is based on recent progresses in the description of the electronic spin relaxation and on an auxiliary probe

solute. It replaces the Solomon, Bloembergen and Morgan (SBM) framework, which is questionable at low field, while avoiding resorting to simulations and/or sophisticated theories with additional unknown zero-field splitting (ZFS) parameters. The inclusion of two picolinate groups on a triazacyclononane framework affords the mono-aquo gadolinium complex [$Gd(bpatcn)(H_2O)$] with favourable electron-relaxation properties ($\tau_{S_0}^{eff} = 125$ ps). The optimisation of the electronic relaxation by ligand design is especially important to achieve high relaxivity in the new generation macromolecular complexes with long rotational correlation times.

Keywords: gadolinium • luminescence • N ligands • relaxometry • terbium

Introduction

The unique spectroscopic and magnetic properties of lanthanide ions have allowed for the use of their complexes in a wide range of medical and biochemical applications. The high magnetic moment ($S = 7/2$) and the slow electronic relaxation of gadolinium make it ideal for the design of magnetic resonance imaging (MRI) relaxation agents,^[1–7] while the long-lived luminescence of Eu^{III} and Tb^{III} complexes has

been exploited in the development of sensors, time-resolved high-throughput assays and fluorescence imaging.^[8–12] The ligand design is crucial for the effective use of the lanthanide properties in such biomedical applications and has incited a large number of coordination chemistry studies.^[1,4,13–16] Poly(amino)carboxylates ligands have been particularly investigated, since the high thermodynamic and kinetic stability often found in their complexes are essential features to prevent in vivo toxicity. All current Gd^{III} -based commercial contrast agents are low-molecular-weight complexes of octadentate poly(aminocarboxylate) ligands such as the macrocyclic H_4dota (1,4,7,10-tetraazacyclododecane- N,N',N'',N''' -tetraacetic acid), and the acyclic H_5dtpa (diethylenetriamine- N,N',N'' -pentaacetic acid).^[2] In these complexes the relaxivity (the key property of a contrast agent expressing its ability to enhance the relaxation rate of the solvent water protons) is much lower than the theoretical maximum, due to a lack of simultaneous optimisation of all the parameters determining the relaxation enhancement.

[a] A. Nonat, Dr. C. Gateau, Dr. P. H. Fries, Dr. M. Mazzanti
Laboratoire de Reconnaissance Ionique
Service de Chimie Inorganique et Biologique (UMR-E 3 CEA-UJF)
CEA/DSM/Département de Recherche Fondamentale
sur la Matière Condensée
CEA-Grenoble, 38054 Grenoble cedex 09 (France)
Fax: (+33) 438-785-090
E-mail: mazzanti@drfmc.ceg.cea.fr

Supporting information for this article is available on the WWW under <http://www.chemeurj.org/> or from the author.

Higher relaxivity is required for the next generation of target-specific MRI contrast agents.^[17] High relaxivity can be obtained in the presence of a high number of inner-sphere water molecules allied with an optimised water-exchange rate, a long rotational correlation time and a long electronic relaxation time.^[5,18] Though large efforts have been devoted to the understanding of the molecular parameters that govern the relaxivity, the mechanisms and the coordination properties underlying the electronic relaxation of Gd^{III} complexes still remain poorly understood.^[19–22] This prevents the ligand design required to optimise the electronic relaxation, which becomes especially important in the new generation macromolecular complexes with long rotational correlation times.

Recently, we reported gadolinium complexes of tripodal or tetrapodal ligands containing picolinate arms showing interesting relaxation properties.^[23–27]

The tetrapodal ligand *N,N'*-bis[(6-carboxypyridin-2-yl)methyl]-ethylenediamine-*N,N'*-diacetic acid (H_4 bpeda) yields soluble nonacoordinated complexes of gadolinium with one water molecule bound to the gadolinium ion. This complex shows water proton relaxivity and water-exchange rates similar (or slightly favourable) to commercial contrast agents. The NMRD profile^[28] and multifrequency EPR studies of this complex showed a rapid electron-spin relaxation below 1 T. At 0.34 T, $[Gd(bpeda)(H_2O)]^-$ was found to be among the Gd³⁺ complexes having the fastest transverse electronic relaxation to date.^[25] Dramatically different relaxation properties were observed for the highly symmetric nonadentate ligand 1,4,7-tris[(6-carboxypyridin-2-yl)methyl]-1,4,7-triazacyclononane (H_3 tpatcn), which contains three picolinate arms connected to the 1,4,7-triazacyclononane core. H_3 tpatcn yields a highly rigid nonacoordinated gadolinium complex that does not contain coordinated water molecules and displays a particularly high relaxivity at low field < 1 MHz ($5.3\text{ mm}^{-1}\text{ s}^{-1}$ at 0.02 MHz and 298 K). A slow electron-spin relaxation was estimated from the NMRD profile of $[Gd(tpatcn)]^{26]}$ in agreement with detailed EPR studies on this complex; the EPR spectra display the smallest peak-to-peak widths observed for gadolinium chelates (at 0.34 T and at room temperature $\Delta H_{pp} = 15\text{ G}$).^[29] The electron-spin relaxation of this complex was also determined by a new

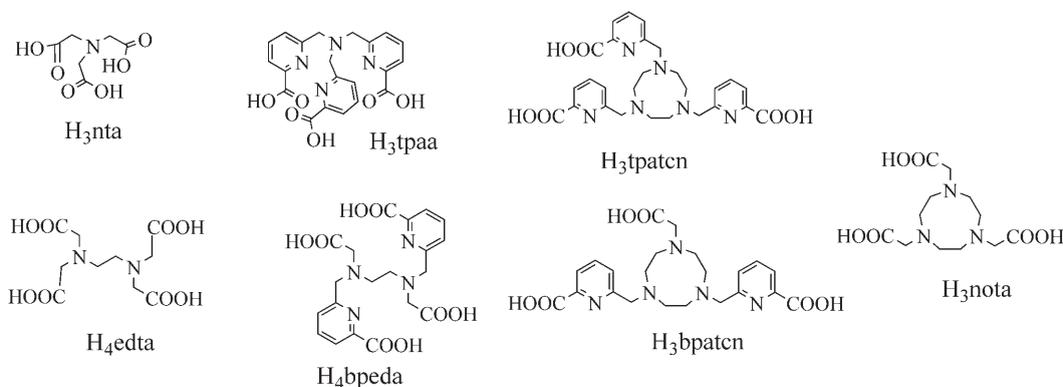
model-independent theory developed very recently in our laboratory.^[27] The obtained value at zero field (~1500 ps) is the longest value reported to date (650 ps for dota). The remarkably slow electron relaxation of this complex has been interpreted in terms of the unusual coordination sphere containing six N donors associated to the complex C_3 symmetry.

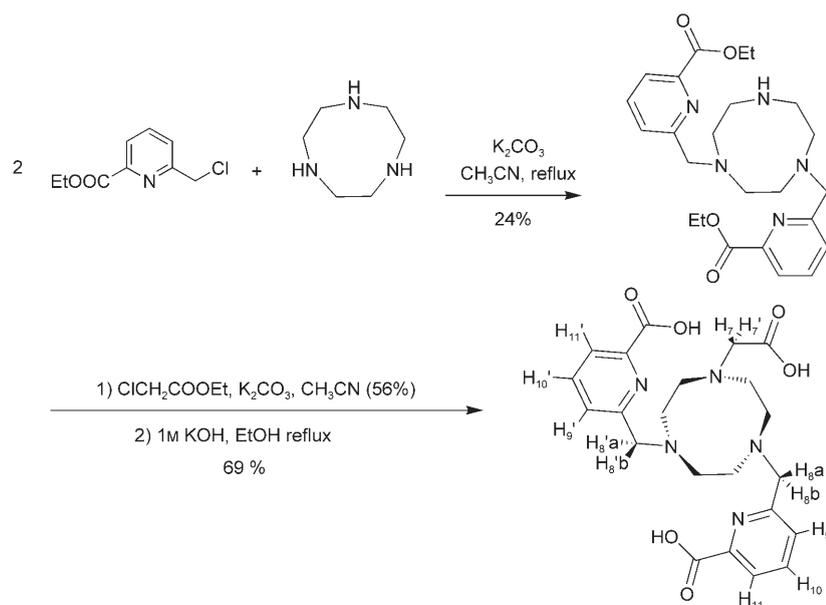
To further investigate the influence of the coordination sphere on the electronic relaxation and to increase the relaxivity, we have prepared an analogous Gd^{III} complex containing one coordinated water molecule using the new ligand 1-(carboxymethyl)-4,7-bis[(6-carboxypyridin-2-yl)methyl]-1,4,7-triazacyclononane (H_3 bpatcn). In H_3 bpatcn two picolinate arms and one acetate arm are connected to the 1,4,7-triazacyclononane core yielding a potentially octadentate ligand. Here we report the characterisation, the thermodynamic stability of the lanthanide complexes of this ligand and the relaxation properties of the gadolinium complex of bpatcn³⁻. We also describe the photophysical properties of the terbium and europium complexes of the H_3 bpatcn ligand. Picolinate groups are efficient sensitizers of lanthanide luminescence and their introduction in a decadentate ligand has previously yielded water-stable and highly luminescent terbium complexes.^[30] In spite of the presence of a coordinated water molecule, usually leading to deactivation of the lanthanide emission, the terbium complex of bpatcn³⁻ shows an intense and long-lived luminescence.

Results and Discussion

Synthesis and molecular structure of the ligand H_3 bpatcn:

1-(Carboxymethyl)-4,7-bis[(6-carboxypyridin-2-yl)methyl]-1,4,7-triazacyclononane (H_3 bpatcn) was obtained in three steps by using the synthetic route detailed in Scheme 1 with a global yield of 9% from the previously described 6-chloromethylpyridine-2-carboxylic acid ethyl ester. The reaction of 1,4,7-triazacyclononane trihydrochloride with two equivalents of 6-chloromethylpyridine-2-carboxylic acid ethyl ester in presence of K_2CO_3 produces a mixture of the desired disubstituted species (yield 24%), of a monosubstituted species (11%) and of the previously described trisubstituted spe-





Scheme 1. Synthesis of the ligand $H_3bpatcn$ and its numbering scheme for NMR spectral assignment.

that interconvert different stereoisomers and coordination equilibria have been evidenced for the lanthanide complexes of *dota* and its derivatives.^[31–35] The lanthanide complexes of the ligand $bpatcn^{3-}$ are expected to give rise to 24 signals in the proton NMR spectrum when coordination of all donor atoms takes place (C_1 symmetry). The rigid coordination of the lanthanide ions can result in two structurally independent elements of chirality associated with the coordinated triazamacrocycle and the torsion angles of the bound pendant arms. The ring can adopt two enantiomeric conformations ($\lambda\lambda\lambda$ and $\delta\delta\delta$) and the chelating arms

cies^[26] (yield 36%), which were separated by column chromatography. Reaction of the disubstituted product (1,4-bis[(6-carboxypyridin-2-yl)methyl]-1,4,7-triazacyclononane) with ethyl chloroacetate and K_2CO_3 followed by saponification produces, after adjustment of the pH (1.5), the ligand ($H_3bpatcn$)Cl₂ in its pentaprotonated form. The proton NMR spectra show all the expected resonances and satisfactory elemental analytical data were obtained.

The ¹H NMR spectrum of $H_3bpatcn$ in D₂O at pD = 6.4 displays a single set of seven signals implying C_2 symmetry. The ethylene moiety of *tacn* gives rise to two peaks at δ = 3.53 and 3.58 ppm. The CH₂ protons close to the picolinate and the acetate groups appear as sharp single peaks at δ = 4.50 ppm and 3.83 ppm respectively. Pyridinic protons afford two doublets (δ = 7.58 ppm and 7.86 ppm) and a triplet (δ = 7.96 ppm). Crystals of $H_3bpatcn \cdot 2HCl \cdot 4H_2O$ were obtained by slow evaporation of a concentrated water solution of the ligand at pH ~1.5. The structure is represented in Figure 1. The structure shows that all the three carboxylates are protonated with C–OH distances ranging from 1.201(4) to 1.215(4) Å. From the difference Fourier electron density map, the two remaining protons were found to be located on the two amino nitrogens of the macrocycle neighbouring the picolinate groups.

NMR spectroscopic studies: NMR spectroscopic studies on the complexes [Ln(*bpatcn*)] (Ln = La, Eu, Lu) have been carried out and compared with the similar studies reported for [Ln(*dota*)]⁻ complexes and with studies on lanthanide complexes of ligands containing the 1,4,7-triazacyclononane macrocyclic core. Numerous studies of the solution behaviour of lanthanide complexes of polyaminocarboxylate ligands by variable-temperature NMR spectroscopy have been reported in the literature.^[5] Conformational equilibria

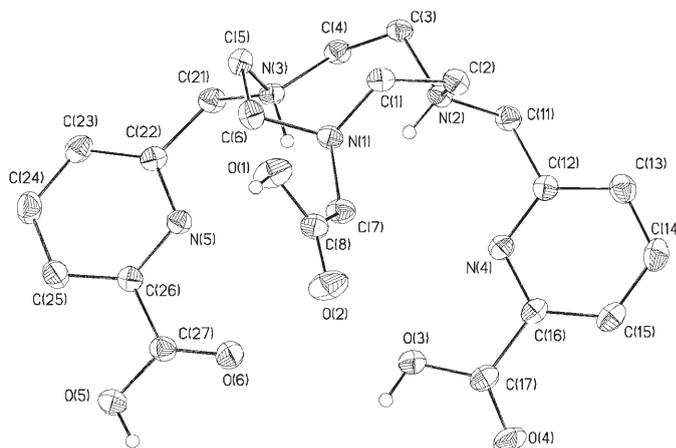


Figure 1. ORTEP diagram of the ligand ($H_3bpatcn$)Cl₂·H₂O, with 30% thermal contours for all atoms.

could be arranged in either a clockwise (Δ) or anticlockwise (Λ) helical fashion. Accordingly, two enantiomeric pairs (Λ -($\lambda\lambda\lambda$)/ Δ ($\delta\delta\delta$) or Λ ($\delta\delta\delta$)/ Δ ($\lambda\lambda\lambda$)) of diastereoisomers could be formed and interconversion through ring inversion or concerted arm rotation could occur (Figure 2). The presence of two pairs of diastereoisomers with a rigid solution structure is expected to give rise to two sets of 24 ¹H NMR signals, while the presence of a rapid exchange between enantiomers would result in average C_s symmetric solution species yielding only 12 NMR signals. Arrangement of the chelating arms in a nonhelical fashion could probably also occur in these asymmetric complexes and would also result in C_1 symmetric isomers. Previous NMR studies on lanthanide complexes of the trianionic hexadentate triaza ligand 1,4,7-triazacyclononane-*N,N,N'*-triacetic acid (H_4nota)^[36] in water and those of the neutral hexadentate ligand 1,4,7-tris-

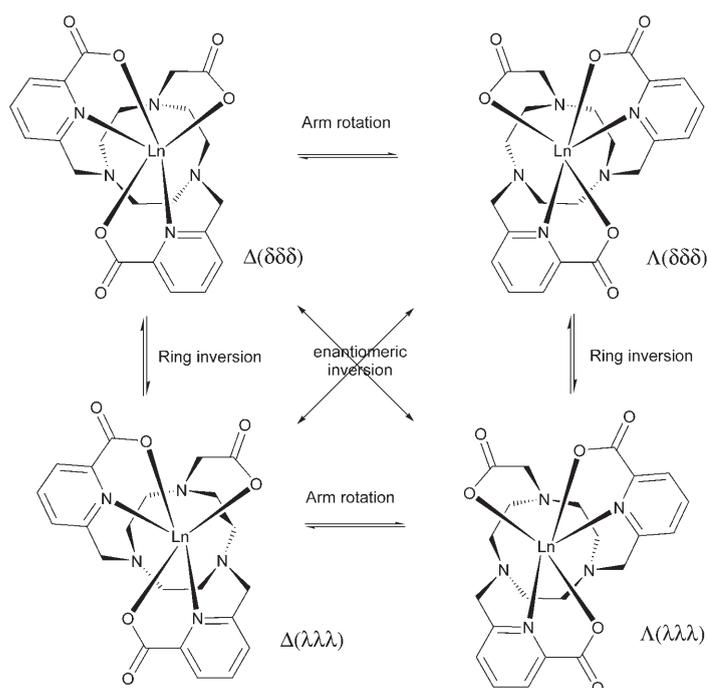


Figure 2. Schematic representation of the possible exchange mechanisms of the conformational isomers of [Ln(bpatcn)].

(carbamoylmethyl)-1,4,7-triazacyclononane^[37] in acetonitrile suggested the presence in these complexes of a flexible triaza core with a fast interconversion between the two staggered conformations of the five-membered chelate rings M-N-C-C-N occurring in conjunction with the change of the pendant arm orientation. Conversely proton NMR studies of the complexes [Ln(tpatcn)] (Ln=Nd, Eu, Lu) indicate the absence of dynamic processes even at high temperature, with the metal remaining encapsulated in a rigid structure by the triazacyclononane ring and by the three arms of the ligand.^[26]

The proton NMR of the lanthanum complex of bpatcn³⁻ in D₂O at pD=7.1 and at 298 K at 400 MHz (Figure 3) shows three signals for the pyridine protons, two signals (doublets) for the diastereotopic methylene protons close to the pyridine, one resonance for the protons of the acetate group and three broad peaks for the protons of ethylene moiety of the macrocycle. Six narrow signals are expected at coalescence for the ethylene protons of the macrocycle in the presence of dynamically averaged C_s symmetric species in which the two picolinate pendant arms are equivalent. At 343 K four slightly broad peaks are observed for the ethylene moiety of the macrocycle indicating that coalescence is not yet fully achieved at this temperature. The diastereotopic character of the CH₂ close to the pyridine is expected in the presence of a long-lived coordination of the three ligand arms to the metal on the NMR timescale. The inversion of the macrocyclic ring associated to the concerted rotation of the three carboxylate groups generate a symmetry plane passing through the acetate arm and the metal ion; this symmetry gives rise to a single peak for the two acetate protons.

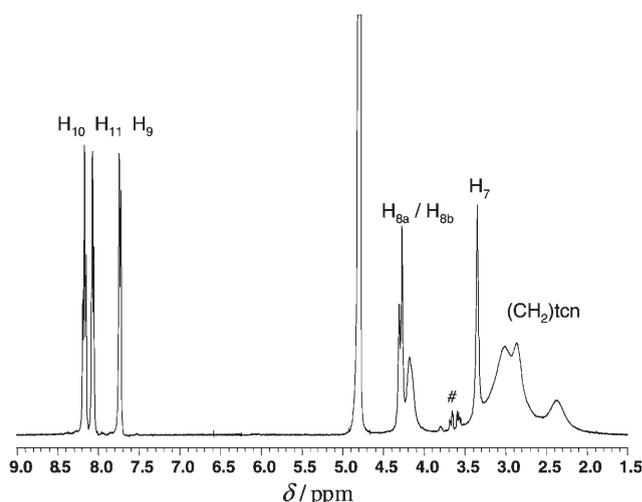


Figure 3. ¹H NMR spectrum at 298 K of [La(bpatcn)] in D₂O at pD=7.1 (# denotes a hydrolite impurity).

The observed spectral features can therefore be interpreted in terms of a fast interconversion between two conformational enantiomers (Λ(λλλ)/Δ(δδδ) or Λ(δδδ)/Δ(λλλ), Figure 2) yielding a dynamically averaged C_s symmetry. The proton NMR spectra in water, in the range 298–278 K, and in a water/methanol mixture, in the range 278–233 K, show only increasingly broader peaks. This indicates that an exchange process is slowed down in this temperature range. The slow exchange limit of the process interconverting enantiomeric pairs is expected to give rise to 24 NMR signals.

At 343 K, the proton NMR spectrum of the Eu^{III} complex of bpatcn³⁻ in D₂O solution at pD=9.1 (Figure 4) shows only one set of 24 narrow signals of equal intensity with six resonances for the pyridine protons, twelve resonances for

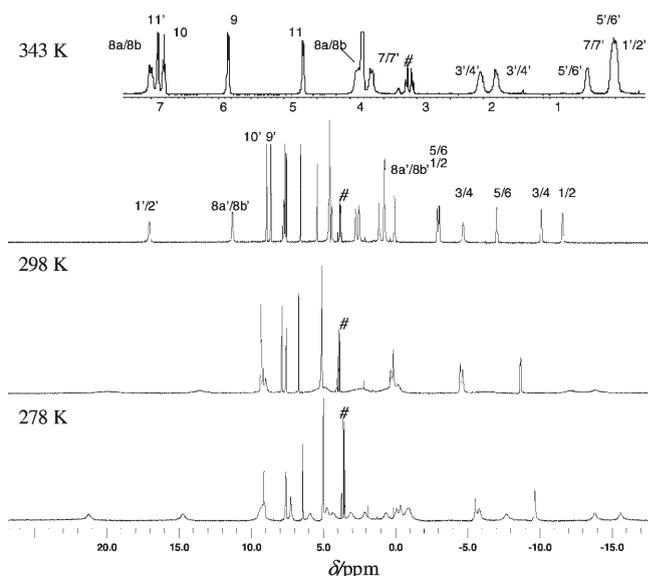


Figure 4. ¹H NMR spectra of [Eu(mabpatcn)] in D₂O at pD=9.1 (# denotes a hydrolite impurity).

the protons of the ethylenic moiety (six axial and six equatorial) of the macrocycle and six resonances for the methylene protons of the pendant arms. These features are in agreement with the presence of C_1 symmetric species at this temperature in which the three macrocyclic nitrogen atoms and the three ligand arms remain coordinated to the metal on the NMR timescale.^[38–40] The signals were completely attributed by a 2D-COSY experiment combined with a ^1H - ^1H NOESY experiment. A two-dimensional EXSY experiment performed at 343 K showed 12 cross peaks between two symmetry-related sets of protons indicating the presence of an exchange between conformational isomers. This can be interpreted by the presence in solution of one pair of enantiomers ($\Lambda(\lambda\lambda\lambda)/\Delta(\delta\delta\delta)$ or $\Lambda(\delta\delta\delta)/\Delta(\lambda\lambda\lambda)$) in slow exchange at this temperature. Upon lowering the temperature the proton NMR spectrum of the $[\text{Eu}(\text{bpatcn})(\text{H}_2\text{O})]$ complex undergoes a severe broadening indicating that a second dynamic process is slowed down. Below 283 K the signals become narrower and the spectrum at 278 K is similar to the one at 343 K showing 24 signals, but broader and slightly shifted (Figure 4). This complex dynamic behaviour could be accounted for by an exchange process between isomers present in solution at very different concentration and involving only arm rotation or ring inversion. The low concentration of the minor isomer (which would give rise to a second set of 24 signals) prevents its identification at 278 K. A similar unusual dynamic behaviour has been previously observed for a dota^{4-} derivative containing a *p*-nitrophenyl substituent^[41] and interpreted in terms of an exchange process involving one major species and at least one minor isomer of very low concentration the relative population of which changes with temperature.

The ^1H NMR spectrum of the diamagnetic Lu^{III} complex of bpatcn^{3-} in D_2O solution at pD=4.2 at 298 K (Figure 5)

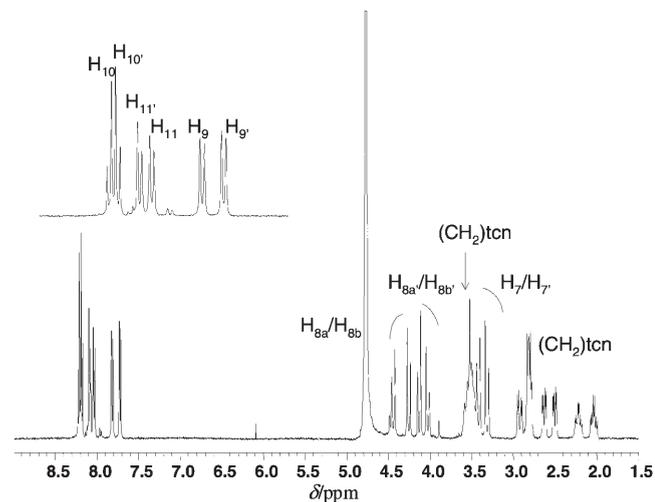


Figure 5. ^1H NMR spectrum at 298 K of $[\text{Lu}(\text{bpatcn})]$ in D_2O at pD=4.2.

shows only one set of 24 signals, with six resonances for the pyridine protons, twelve resonances partially overlapped for the protons of the ethylene moiety (six axial and six equato-

rial) of the macrocycle and six resonances for the diastereotopic methylene protons of the pendant arms. A 2D-COSY experiment combined with a ^1H - ^1H NOESY experiment allowed the accurate assignment of the pyridine protons and of the methylene protons of the pendant arms. A strong NOE effect is observed between the protons $\text{H}_{8a/8b}$ and $\text{H}_{8a'/8b'}$ of the CH_2 group close to the pyridine and the pyridine protons H_9 and H_9' . The CH_2 - CH_2 moieties of the macrocycle form a complex series of multiplets, doublets of doublets and triplets that were only partially assigned. These features are consistent with the presence of a highly rigid C_1 symmetric solution structure in which the macrocyclic framework and the pendant arms remain bound and rigid on the NMR timescale. The proton NMR spectra remain unchanged in the pD range 4.2–9. A very similar ^1H NMR spectrum (Figure S1 in the Supporting Information) showing high conformational rigidity was observed for the yttrium complex (the Y^{III} ion has a coordination number and ionic radius similar to the Er^{III} ion).

Two-dimensional EXSY experiments were performed in water at 298 and 343 K. While no exchange was detected at room temperature, at 343 K the two-dimensional EXSY spectrum in water features cross peaks associated with the slow exchange of the two groups of protons (1–11 and 1'–11') located in the opposite sides of a symmetry plane arising from the slow interconversion between two pair of C_1 symmetric enantiomers ($\Lambda(\lambda\lambda\lambda)/\Delta(\delta\delta\delta)$ or $\Lambda(\delta\delta\delta)/\Delta(\lambda\lambda\lambda)$). The ^1H NMR spectra recorded in D_2O between 278 and 298 K show a splitting pattern almost unchanged over this temperature range, indicating the absence of a second dynamic process in this range.

While an exchange between two enantiomeric pairs is observed at elevated temperature for the La^{III} and the Lu^{III} complexes of dota^{4-} , a very different behaviour is found for the $[\text{La}(\text{bpatcn})]$ and $[\text{Lu}(\text{bpatcn})]$ complexes with an increased rigidity observed for the smaller lanthanide ions (Y^{III} and Lu^{III} complexes).

These results suggest that the lanthanide ions are encapsulated by the three arms of bpatcn^{3-} and that the macrocycle framework remains bound by the five nitrogen and the three oxygen atoms, even at high temperature, as previously observed for the lanthanide complexes of the symmetric nonadentate ligand tpatcn .^[26] Moreover, on the basis of the NMR studies, a similar arrangement of the donor atoms around the metal centre can be anticipated for the lanthanide complexes of tpatcn^{3-} and bpatcn^{3-} .

Proton NMR studies had allowed to evidence the conformational rigidity of a nonadentate derivative of 1,4,7-triazacyclononane with three iminocarboxylic pendant arms.^[42] The Schröder group reported recently the solid-state and solution structure of the lanthanide complexes $[\text{Ln}(\text{L})(\text{CH}_3\text{COO})]$ of an analogous heptadentate bisanionic derivative 1,4,7-triazacyclononane with two iminocarboxylic pendant arms.^[43] While a more flexible solution structure is observed for the yttrium complex of this ligand, the solid-state coordination geometries of the two series are similar. This is a consequence of the presence of the 1,4,7 triazacyclono-

nane capping group, which forces the Ln ion to assume a trigonal prismatic structure.

Finally, the replacement of one bidentate pyridinecarboxylate arm in the ligand tpatcn³⁻ with a monodentate acetate to produce bpatcn³⁻ does not result in a significant modification of the coordination mode or in an increased fluxionality for complexes of smaller lanthanide ions. An increased conformational mobility is, however, found for the larger lanthanide ions.

Protonation constants and stability constants: The deprotonation constants of H₃bpatcn defined as $K_{ai} = [H_{6-i}L]^{3-i}/[H_{5-i}L]^{2-i}[H]^+$ were determined to be $pK_{a1} = 2.2(2)$, $pK_{a2} = 2.3(2)$, $pK_{a3} = 3.7(3)$, $pK_{a4} = 5.42(3)$ and $pK_{a5} = 10.5(2)$ (0.1 M KCl, 298 K) by potentiometric titration. The titration curves of H₃bpatcn and of its Gd^{III} and Ca^{II} complexes are shown in Figure S2 in the Supporting Information. Variable pH proton NMR spectroscopy of the ligand shows significant variations (0.3–0.4 ppm) in the chemical shift of both types of methylene protons (close to the picolinic or to the carboxylic acid) during the fifth (pH 10–13) and fourth protonation processes (pH 4.5–7). Significant variations are observed only for the methylene protons close to the picolinic group during the second and third protonation processes (pH 1.5–4.5). Significant variations are observed also for the chemical shifts of the three pyridyl protons (H3 and to a lesser extent H4 and H5, 0.3–0.2 ppm) upon the second and third protonation processes. The protonation curves indicate that the first two equivalents of acid protonate equally the different type of nitrogen atoms of the macrocycle ($pK_{a4} = 5.42(3)$, $pK_{a5} = 10.5(2)$). The next two equivalents protonate the carboxylates bound to the pyridines ($pK_{a2} = 2.3(2)$, $pK_{a3} = 3.71(3)$). The value of pK_{a1} (2.2(2)) is consistent with the value found for the protonation of the carboxylate in H₃nota ligand (2.88(2)).^[36] The crystal structure of the protonated ligand H₃bpatcn·2HCl isolated at pH~2, showing that all carboxylic acid oxygen atoms and the two macrocycle nitrogen atoms (adjacent to the picolines) are protonated, is also in agreement with the assignment of the pK_{a1} to the protonation of the carboxylic acid. The protonation curve and the structural data are in agreement with a simultaneous partial protonation of the three macrocycle nitrogens, as previously observed for the ligand H₃nota, followed by the protonation of the carboxylate groups. The protonation of the third amine and of the pyridine nitrogens occur at lower pH and the associate pK_a could not be determined. The two highest pK_a 's are very similar to the highest pK_a 's of the cyclic triamine 1,4,7-triazacyclononane (10.42, 6.82)^[44] and of the macrocyclic triaza ligand H₃nota (11.3(1) and 5.59(2)). The values of pK_{a2} and pK_{a3} are consistent with the values found for the protonation of the picolinate groups in the tripodal ligand H₃tpaa (H₃tpaa = $\alpha, \alpha', \alpha''$ -nitrilotri(6-methyl-2-pyridinecarboxylic acid) ($pK_{a2} = 3.3(1)$, $pK_{a3} = 4.11(6)$).^[24] While the introduction of pyridinecarboxylate groups results in the decrease of the overall basicity of the ligand H₃tpaa with respect to H₃nta (nitrilotriethanoic acid) and of the ligand H₄bpdea

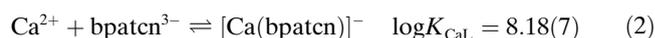
with respect to H₄edta,^[25] the H₃bpatcn ligand has a protonation scheme and pK_a values very similar to his parent ligand H₃nota (Table 1).

Table 1. Values of pK_a and $\log K$ for H₄bpdea and related ligands.

Ligand	pK_a	$\log K_{GdL}$	$\log K_{CaL}$
H ₃ bpatcn ^[a]	10.5(2),5.42(3),3.71(3),2.3(2),2.2(2)	15.8(2)	8.18(7)
H ₃ nota ^[b]	11.3,5.6,2.88	13.7	8.92
H ₄ bpdea ^[c]	8.5(1),5.2(2),3.5(1),2.9(1)	15.1(3)	9.4(1)
H ₄ edta ^[b]	10.19,6.13,2.69,2.60	17.4	10.5
H ₃ nta ^[b]	9.75,2.64,1.57	11.4	
H ₃ tpaa ^[d]	4.11(6),3.3(1),2.5(2)	10.2(2)	8.5(2)

[a] This work. [b] From reference [46], which does not include experimental errors. [c] From reference [25]. [d] From reference [24].

The stability constants of the complexes formed between Gd^{III} and Ca^{II} ions and H₃bpatcn have been determined by direct titration of 1:1 metal/H₃bpatcn (5×10^{-4} M) mixtures in the pH range 2.5–8.5. Titration data could be fitted to Equations (1) and (2).



The values of $pGd = 13.6$ and $pCa = 6.30$ ($-\log[M]_{free}$ at pH 7.4, $[M]_{total} = 1 \mu M$ and $[bpatcn]_{total} = 10 \mu M$), which allow a straightforward comparison of complex stabilities in physiological conditions, suggest a quite good physiological stability with respect to the commercial contrast agent $[Gd(dtpa-bma)(H_2O)]^-$ ($\log K_{GdL} = 16.85$, $pGd = 15.8$, $pCa = 6.39$) although probably too low for in vivo application.^[45,46]

While the pK_a values and therefore the basicity of H₃bpatcn and H₃nota are very similar, the stability of the gadolinium complex of bpatcn³⁻ is significantly higher than that of the nota complex ($\log K_{GdL} = 13.7$).^[36] The presence of the two additional N-donor atoms provided by the pyridyl groups in bpatcn results in an increased stability (2.1 log units) of the gadolinium complex. The contribution of the 2-pyridylmethyl to stability was evaluated to 2.6 log units for the cation Gd^{III} complex of the edta derivative *N,N'*-bis(2-pyridinylmethyl)ethylenediamine-*N,N'*-diacetate.^[47] However, in our previous studies we observed that in spite of the presence of two (bpdea⁴⁻ with respect to the ligand edta⁴⁻) or three (tpaa³⁻ with respect to nta³⁻) additional coordinating pyridyl nitrogen atoms, the stability of the gadolinium complex and of the calcium complex is lower for the octadentate ligand bpdea⁴⁻ with respect to hexadentate edta⁴⁻ and for heptadentate ligand tpaa³⁻ with respect to the tetradentate nta³⁻ (Table 1). The decrease in stability was explained in terms of the decreased overall basicity of the ligands containing 6-methyl-2-pyridinecarboxylic, leading to the conclusion that the pyridine does not contribute significantly to the complex stability when included in the 6-methyl-2-pyridinecarboxylic group.^[25] The results presented here show that if the ligand basicity is maintained the pyri-

dine N-donor groups contribute significantly to the stability of the gadolinium complex even when included in the 6-methyl-2-pyridinecarboxylic group. Moreover the stability constant of the calcium complex of bpatcn^{3-} is approximately the same of that of nota^{3-} . Hence, the pyridyl groups in bpatcn^{3-} produce a selectivity for Gd^{III} over Ca^{II} . High selectivity of the ligand for gadolinium over physiological metals is crucial for the application of its complexes in MRI, since the release of Gd^{III} associated to transmetallation in vivo is responsible for the toxicity of gadolinium complexes.^[48]

Photophysical properties: The photophysical properties of lanthanides (sharp emission, long luminescence lifetime allowing to discriminate between the background fluorescence of biological materials and the target signal) make their complexes very attractive for the application as luminescent labels in time-resolved imaging and in biomedical assays.^[1,9,11,49] In spite of numerous studies directed to prepare highly luminescent complexes, the lanthanide-based, commercial luminescent labels remain scarce,^[50] due to the high requirements on the design of suitable labels. The preparation of lanthanide complexes that are stable and highly emissive in water requires the design of polydentate ligands that contain suitable sensitizers of the lanthanide emission, capable of shielding the metal centre from the solvent water molecules to prevent nonradiative deactivation of the lanthanide excited states by O–H oscillators. We have recently reported that the incorporation of picolinate groups in a decadentate ligand yields highly luminescent terbium and europium complexes.^[25] These results incited the study of the photophysical properties of the terbium and europium complexes of bpatcn^{3-} . The solvation state of the bpatcn^{3-} complexes of Eu and Tb was studied by comparison of their luminescence decays in H_2O and D_2O . Due to the different quenching efficiencies of the O–H and O–D oscillators, the measurement of Ln^{3+} phosphorescence lifetimes (τ) in H_2O and D_2O allows an accurate estimation of the number of coordinated water molecules present in solution (q) by using the equation of Beeby and co-workers ($q = A_{\text{Ln}}(1/\tau_{\text{H}_2\text{O}} - 1/\tau_{\text{D}_2\text{O}} - \alpha_{\text{Ln}})$ with $A_{\text{Tb}} = 5 \text{ ms}$, $A_{\text{Eu}} = 1.2 \text{ ms}$, $\alpha_{\text{Tb}} = 0.06 \text{ ms}^{-1}$ and $\alpha_{\text{Eu}} = 0.25 \text{ ms}^{-1}$),^[51] (a corrected version of the empirical equation of Horrocks and Sudnick^[52] accounting for closely diffusing OH oscillators). The observed lifetimes of the Eu (${}^5\text{D}_0$) ($\tau_{\text{H}_2\text{O}} = 0.542(4) \text{ ms}$ and $\tau_{\text{D}_2\text{O}} = 1.67(4) \text{ ms}$) and Tb (${}^5\text{D}_4$) ($\tau_{\text{H}_2\text{O}} = 1.49(2) \text{ ms}$ and $\tau_{\text{D}_2\text{O}} = 2.46(7) \text{ ms}$) levels for the $[\text{Tb}(\text{bpatcn})(\text{H}_2\text{O})_x]$ and $[\text{Eu}(\text{bpatcn})(\text{H}_2\text{O})_x]$ complexes are in agreement with the presence of $x = 1.2 \pm 0.2$ and 1.0 ± 0.2 coordinated water molecules in the Eu and Tb complexes, respectively. A similar number of coordinated water molecules can be expected for the gadolinium ion, which has a ionic radius intermediate between those of Eu and Tb.

The absorption spectra of bpatcn^{3-} and of its Eu^{III} and Tb^{III} complexes show an intense band at $\sim 36500 \text{ cm}^{-1}$ with a molar absorption coefficient of 9050 for Eu and of 9100 for Tb. These bands were assigned to a combination of $\pi \rightarrow \pi^*$ and $n \rightarrow \pi^*$ ligand-centred transitions.^[53] The emission spec-

tra of solutions of the europium and terbium complexes at pH 7.4 (obtained under excitation at 273 nm) show the usual ${}^5\text{D}_0 \rightarrow {}^7\text{F}_j$ and ${}^5\text{D}_4 \rightarrow {}^7\text{F}_j$ ($J = 0-6$) and transitions typical of the Eu^{3+} and Tb^{3+} ions, respectively (Figure 6). The lumines-

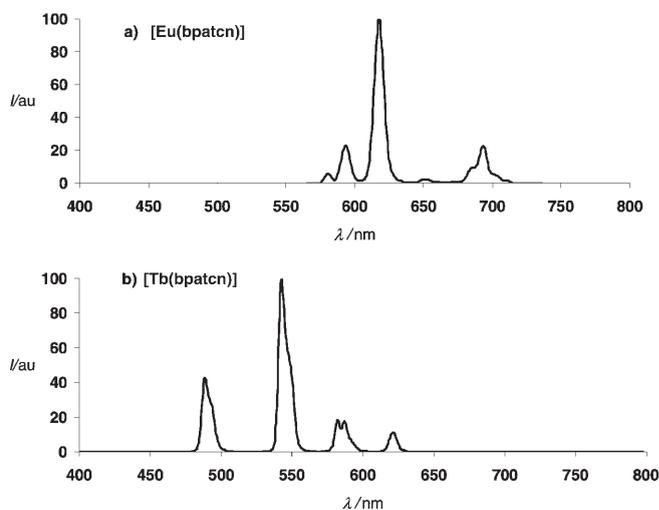


Figure 6. Normalised emission spectrum of a) $[\text{Eu}(\text{bpatcn})]$ and b) $[\text{Tb}(\text{bpatcn})]$ upon ligand excitation at 274 nm.

cent properties of the visible-emitting lanthanide ions Eu and Tb are efficiently sensitised by the ligand bpatcn^{3-} . An efficient ligand-to-metal energy transfer is suggested by the close matching of the excitation and absorption spectra of the Tb chelates (Figure 7). The value of the sensitised emis-

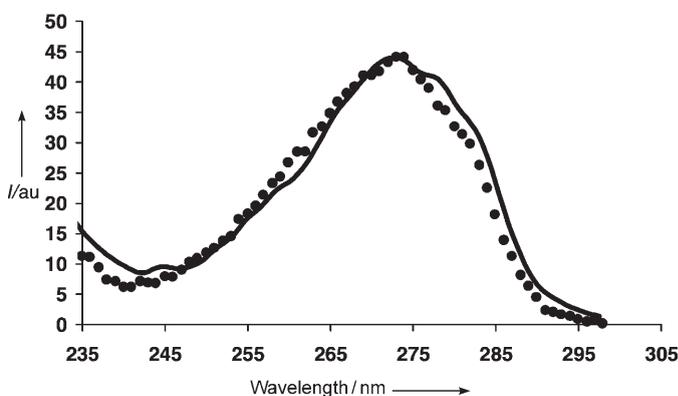


Figure 7. Absorption (.....) of H_3bpatcn and excitation spectrum (—) of $[\text{Tb}(\text{bpatcn})]$ in Tris buffer.

sion quantum yield of the $[\text{Tb}(\text{bpatcn})(\text{H}_2\text{O})]$ complex ($\phi = 43\%$) measured relative to $[\text{Tb}(\text{dpa})_3]^{3-}$ ($\text{H}_2\text{dpa} = \text{dipicolinic acid}$) in aerated 0.1 M tris(hydroxymethyl)aminomethane (Tris) buffer with an experimental error of 15% is one of the highest reported to date^[10,54-57] and the highest value found for terbium complexes containing a water molecule coordinated to the metal centre. The bpatcn^{3-} chromophore sensitises the Eu ion less efficiently, leading to a quantum

yield value $\phi = 5\%$, similar to the quantum yield of lanthanide-based commercial luminescent probes.^[58,59] The very intense luminescence of the Tb ion is a result of efficient ligand-to-metal energy transfer and indicates an effective shielding of the metal ion from radiationless deactivation in spite of the presence of a water molecule coordinated to the metal. The long luminescence lifetime observed for the terbium complex in H₂O (1.5 ms) rules out the presence of a de-excitation pathway involving back-transfer from the excited state of the metal to the ligand. The low efficiency of this nonradiative decay process (the most important in terbium) results in a high luminescence quantum yield of the terbium complex. The comparison of the luminescence behaviour in water and deuterated water shows that the solvent-induced nonradiative decay process affects the quantum yield of the terbium complex to a lesser extent with respect to the europium complex (Table 2).

Table 2. Lifetime and absolute quantum yields in Tris buffer, pH 7.4 (298 K) relative to [Eu(dpa)₃]³⁻ and [Tb(dpa)₃]³⁻.

	λ_{exc} [nm]	ϵ [M ⁻¹ cm ⁻¹]	$\tau_{\text{H}_2\text{O}}$ [ms]	$\tau_{\text{D}_2\text{O}}$ [ms]	$\phi_{\text{H}_2\text{O}}$	$\phi_{\text{D}_2\text{O}}$
bpatcn	272	7850				
[Eu(bpatcn)]	273	9050	0.542(4)	1.67(4)	0.05	0.12
[Tb(bpatcn)]	273	9100	1.49(2)	2.46(7)	0.43	0.48

Relaxivity theory: In an external field B_0 , the efficiency of a Gd^{III} complex to enhance the contrast of T_1 -weighted magnetic resonance (MR) images is gauged by its relaxivity^[2,5] r_1 , which is defined as the paramagnetic relaxation enhancement (PRE) of the longitudinal relaxation rate of the water protons due to a 1 mM increase of the concentration of this complex, also named (relaxation) contrast agent (CA). This definition readily extends to the protons of a solute. In the presence of a concentration [GdL] (mM) of paramagnetic GdL complexes, the measured longitudinal relaxation rate R_1 (s⁻¹) of nuclear spins I is the sum given^[2,5] in Equation (3) of the relaxation rate R_{10} in the diamagnetic solution without Gd^{III} complexes and of the PRE R_{1p} of the spins I due to their interactions with the electronic spins S of the complexed Gd^{III} ions.

$$R_1 = R_{10} + R_{1p} \quad (3)$$

In Equation (4), the PRE R_{1p} is conveniently split into inner-sphere (IS) and outer-sphere (OS) contributions R_{1p}^{IS} and R_{1p}^{OS} .

$$R_{1p} = R_{1p}^{\text{IS}} + R_{1p}^{\text{OS}} \quad (4)$$

These contributions originate from two different starting situations of the random intermolecular trajectories of the water or solute molecule with respect to the gadolinium complex. At initial time $t=0$, this species directly coordinates Gd^{III} in the case of the IS mechanism, whereas it undergoes a relative translational diffusion with respect to the complex for the OS contribution.

The (longitudinal) relaxivity r_1 (s⁻¹mM⁻¹) is expressed in Equation (5) as the sum of the IS and OS relaxivities $r_1^{\text{IS}} \equiv R_{1p}^{\text{IS}}/[\text{GdL}]$ and $r_1^{\text{OS}} \equiv R_{1p}^{\text{OS}}/[\text{GdL}]$.

$$r_1 \equiv \frac{R_{1p}}{[\text{GdL}]} = r_1^{\text{IS}} + r_1^{\text{OS}} \quad (5)$$

The popular Solomon, Bloembergen and Morgan (SBM) approach^[2,5] provides a general expression of the IS relaxivity r_1^{IS} of the water protons. This expression depends on 1) the number (q) of coordinated water molecules, 2) the coordination lifetime (τ_M) of a water molecule and 3) the nuclear relaxation time (T_{1M}) of a water proton due to its magnetic dipole-dipole coupling, with the Gd^{III} spin in the limiting situation in which the water molecule bearing this proton would be coordinated to the metal for an infinite duration. Note that the theoretical nuclear relaxation rate $1/T_{1M}$ used in this work to calculate the IS relaxivity is different from the usual SBM expression. It is obtained by Equation (18) in the section on Theoretical Basis (in the Experimental Section). The general expression of r_1^{IS} is given by Equation (6).

$$r_1^{\text{IS}} = 1.8 \times 10^{-5} q \frac{1}{T_{1M} + \tau_M} \quad (6)$$

Some questionable approximations concerning the electronic relaxation and underlying the SBM relaxation model, which is generally used to interpret the relaxivity data, will be overcome in the present section and further discussed in the section Theoretical Basis (in the Experimental Section). At low field, such approximations lead to an incorrect expression of the theoretical relaxivity involving many unknown parameters. When these parameters are fitted so as this SBM-incorrect expression reproduces the low-field experimental relaxivity, they can take unphysical values to compensate for the drawback of the theory. As recently pointed out by Caravan and co-workers^[60] and discussed in the section Theoretical Basis, a proper interpretation of low-field relaxivity data requires a rigorous treatment of the fluctuations of the static zero-field splitting (ZFS). To this end, additional unknown parameters affecting the IS relaxivity have to be introduced, that is, the degree of rhombicity of the static ZFS and the orientation of the Gd^{III}-proton vector \mathbf{r}_H of a coordinated water molecule in the molecular frame of the complex. Then, the theoretical relaxivity r_1 can no longer be expressed in terms of simple analytical expressions as in the SBM approach. It has to be computed either by setting up and inverting the very large matrices of the superoperator Liouville formalism of the general slow-motion theory^[19] or by numerical simulation.^[20-22] Rather than using the questionable SBM formalism at low field, Troughton et al.^[60] contented themselves with interpreting the experimental relaxivity above 0.2 T. Indeed, in this "high"-field region, it depends practically only on the longitudinal electronic relaxation rate $1/T_{1e}$, which is given by general expressions of the McLachlan type.^[61-63]

In this paper, we propose a simple three-step method for interpreting the relaxivity profile of the water protons for all field values. The method avoids both the questionable multi-parameter fit of the low-field experimental relaxivity by the SBM expression (see the section Theoretical Basis in the Experimental Section) and/or rather complex simulations with additional adjustable parameters. It is based on an independent experimental determination of the electronic relaxation, which makes it self-consistent from an experimental point of view. It consists of measuring the relaxivity of the protons of an auxiliary probe solute that has pure OS intermolecular dynamics with respect to the Gd^{III} complex.

The theoretical OS relaxivity r_1^{OS} is calculated by using the Ayant, Belorizky, Hwang, and Freed (ABHF) analytical formalism.^[64–66] The water or diamagnetic solute bearing the observed nuclear spins and the GdL complex are approximated as two hard spheres. These spheres are assumed to carry the nuclear and electronic spins at their centres and to undergo translational Brownian motions in a structureless viscous continuum. Let D_1 , D_S be the self-diffusion coefficients of the diamagnetic molecule and GdL complex, respectively. Their relative diffusion coefficient is taken to be $D = D_1 + D_S$. Denoting their collision diameter by b , their translational correlation time τ is defined by Equation (7).

$$\tau \equiv b^2/D \quad (7)$$

It is assumed that the quantum motion of the electronic spin S and the OS spatial dynamics of S with respect to the observed nuclear spin I are uncorrelated. Then, the effects of the electronic relaxation on the OS relaxivity r_1^{OS} stem^[22,27] from the longitudinal and transverse electronic time correlation functions (TCFs) $G_{\parallel}^{\text{nor}}(t) \equiv \langle S_z(t)S_z(0) \rangle / \langle S_z(0)S_z(0) \rangle$ and $G_{\perp}^{\text{nor}}(t) \equiv \langle S_+(t)S_-(0) \rangle / \langle S_+(0)S_-(0) \rangle$ of the electron-spin components S_α ($\alpha = x, y, z$). Indeed, r_1^{OS} is a linear combination of spectral densities, which are Fourier–Laplace transforms of the products of the OS intermolecular dipolar TCF $g_2^{\text{OS}}(t)$ times $G_{\parallel}^{\text{nor}}(t)$ and $G_{\perp}^{\text{nor}}(t)$. The decay of $G_{\text{dir}}^{\text{nor}}(t)$ ($\text{dir} = \parallel, \perp$) with time results in values of the product $g_2^{\text{OS}}(t)G_{\text{dir}}^{\text{nor}}(t)$, which are smaller than those of $g_2^{\text{OS}}(t)$, hence in a relative attenuation of r_1^{OS} . According to recent Monte Carlo simulations,^[22,67] the attenuation effect of the longitudinal TCF $G_{\parallel}^{\text{nor}}(t)$ is maximum at $B_0 = 0$ and decreases monotonously with increasing field. The attenuation effect on r_1^{OS} caused by the time decay of the transverse TCF $G_{\perp}^{\text{nor}}(t)$ drops similarly as the field increases. However, this decreasing attenuation effect is by far compensated by the stronger and stronger quenching of r_1^{OS} by the faster and faster oscillations of $G_{\perp}^{\text{nor}}(t)$ due to the precession of the Gd^{III} spin S at the electronic Larmor frequency ω_S . Our method is based on an effective treatment of the time decays of $G_{\parallel}^{\text{nor}}(t)$ and $G_{\perp}^{\text{nor}}(t)$, which will be expressed as sums of decreasing exponentials, even if the Redfield–Abragam validity conditions do not hold, so that such expressions are expected to be only approximate.^[22,63,67–69]

Let γ_1 and γ_S be the gyromagnetic ratios of the proton and electron spins, respectively. In an external field B_0 ,

denote the Larmor angular frequencies of the proton and electron spins by $\omega_1 = -\gamma_1 B_0$ and $\omega_S = -\gamma_S B_0$. The theoretical form of the OS relaxivity r_1^{OS} depends on the analytical expressions of $G_{\parallel}^{\text{nor}}(t)$ and $G_{\perp}^{\text{nor}}(t)$. Let D_S^r be the rotational (r) diffusion coefficient of the complex and $\tau_r = \tau_2 \equiv 1/(6D_S^r)$ its rotational correlation time. Denote the magnitude of the second-order static ZFS responsible for the low-field electronic relaxation by a_2 . The longitudinal electronic TCF $G_{\parallel}^{\text{nor}}(t)$ was shown to decrease monoexponentially^[22,63] at the rate $1/T_{1e}^{\text{analyt}}$ given by Equation (8) for $B_0 \geq 0.2$ T.

$$\frac{1}{T_{1e}^{\text{analyt}}} \equiv \frac{12}{5} a_2^2 \tau_r \left(\frac{1}{1 + \omega_S^2 \tau_r^2} + \frac{4}{1 + 4\omega_S^2 \tau_r^2} \right) \quad (8)$$

As $B_0 \rightarrow 0$, the attenuation effect of $G_{\parallel}^{\text{nor}}(t)$ on r_1^{OS} is assumed to be still given by an effective monoexponential decay of $G_{\parallel}^{\text{nor}}(t)$ at a rate $1/T_{1e}$. Let $1/T_{1e}(B_0 = 0) \equiv 1/\tau_{S0}^{\text{eff}}$ be the effective relaxation rate of this decay at zero field. In the present study, the longitudinal electronic relaxation rate $1/T_{1e}$ is defined by Equation (9).

$$\frac{1}{T_{1e}} = \frac{1}{\tau_{S0}^{\text{eff}}} \tanh \left[\left(\frac{1}{T_{1e}^{\text{analyt}}} \right) / \left(\frac{1}{\tau_{S0}^{\text{eff}}} \right) \right] \quad (9)$$

The physically relevant monotonous decrease of $1/T_{1e}$ versus the proton resonance frequency ν_1 [MHz] is shown in Figure 8 for the [Gd(bpatcn)(D₂O)] complex in D₂O with

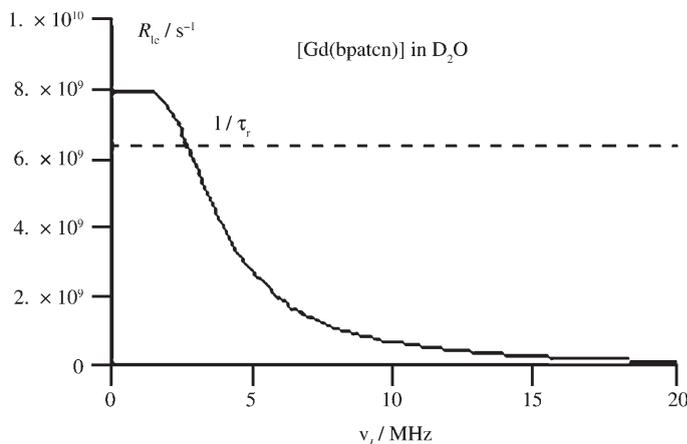


Figure 8. The longitudinal electronic relaxation rate $1/T_{1e}$ of [Gd(bpatcn)(D₂O)] versus the proton resonance frequency ν_1 in D₂O at 298 K. The rate $1/T_{1e}$ is defined by Equations (8) and (9). The fluctuating rate of the static ZFS responsible for the low-field electron relaxation is $1/\tau_r$.

the parameters derived hereafter from the application of the method to this complex. As B_0 increases, $1/T_{1e}^{\text{analyt}}$ drops rapidly because of its field dispersion in $(\omega_S \tau_r)^{-2}$ and becomes significantly smaller than $1/\tau_{S0}^{\text{eff}}$, so that the expected equality $1/T_{1e} \approx 1/T_{1e}^{\text{analyt}}$ holds. Moreover, $1/T_{1e}$ smoothly tends to $1/\tau_{S0}^{\text{eff}}$ as $B_0 \rightarrow 0$. Also note that $1/T_{1e}$ is smaller than or roughly equal to the fluctuating rate $1/\tau_r$ of the static ZFS responsible for the low-field electronic relaxation. This is coherent

with the notion of spin relaxation rate induced by a fluctuating Hamiltonian as discussed by Bertini and co-workers.^[69] Now, consider the time decay of the transverse electronic TCF $G_{\perp}^{\text{nor}}(t)$. At $B_0=0$, the resonating nuclei are in an isotropic magnetic-field environment, so that $G_{\perp}^{\text{nor}}(t)$ decays monoexponentially at the same rate $1/T_{2e,1}(B_0=0)=1/T_{1e}=1/\tau_{S0}^{\text{eff}}$ as $G_{\parallel}^{\text{nor}}(t)$. For a sufficiently weak static ZFS and a sufficiently short rotational correlation time τ_r , the Redfield–Abragam validity conditions hold.^[22,63,70] Then, $G_{\perp}^{\text{nor}}(t)$ is a linear combination of four decreasing exponentials $G_{\perp}^{\text{nor}}(t)=\exp(i\omega_s t) \sum_{i=1}^4 w_i \exp(-t/T_{2e,i}^{\text{Redfield}})$ of weights w_i and rates $1/T_{2e,i}^{\text{Redfield}}$, which are obtained by numerical diagonalisation of the Redfield matrix of the transverse electronic relaxation.^[70] At $B_0=0$, the weights w_i and rates $T_{2e,i}^{\text{Redfield}}$ are such that $w_1=1$, $w_2=w_3=w_4=0$ and $1/T_{2e,i}^{\text{Redfield}}(B_0=0)=1/T_{1e}$, so that the expected equality $G_{\perp}^{\text{nor}}(t)=G_{\parallel}^{\text{nor}}(t)$ is satisfied. In the present study, $G_{\perp}^{\text{nor}}(t)$ is still taken to be a weighted sum of four exponentials $G_{\perp}^{\text{nor}}(t)=\exp(i\omega_s t) \sum_{i=1}^4 w_i \exp(-t/T_{2e,i})$, where the weights are those of the Redfield theory and the transverse electronic relaxation rates $1/T_{2e,i}$ are defined by Equation (10).

$$\frac{1}{T_{2e,i}} = \frac{1}{\tau_{S0}^{\text{eff}}} \tanh \left[\frac{1}{T_{2e,i}^{\text{Redfield}}} / \left(\frac{1}{\tau_{S0}^{\text{eff}}} \right) \right] \quad (10)$$

Under this approximation, $G_{\perp}^{\text{nor}}(t)$ is reasonably accurate within the Redfield limit and the equality $G_{\perp}^{\text{nor}}(t)=G_{\parallel}^{\text{nor}}(t)$ holds at ($B_0=0$). Moreover, for the [Gd(bpatcn)(D₂O)] complex in D₂O, the rates $T_{2e,i}$ are smaller than or roughly equal to the fluctuating rate $1/\tau_r$. As B_0 increases, note that $G_{\perp}^{\text{nor}}(t)$ affects r_1^{OS} more and more through its fast oscillations due to the precession of the Gd^{III} spin S at the electronic Larmor frequency ω_s , so that a precise description of the time decay of $G_{\perp}^{\text{nor}}(t)$ is not necessary.

For both water and probe solute molecules, r_1^{OS} is given by Equation (11) in terms of the ABHF OS spectral density^[64,65] $J_{2c}^{\text{OS}}(\sigma)$ defined by Equation (12). The argument σ takes the complex values $1/T_{1e}+i\omega_1$ and $1/T_{2e,j}+i\omega_s$ in Equation (11). The function $J_{2c}^{\text{OS}}(\sigma)$ is the real part of the Laplace transform of the Hwang and Freed (HF) intermolecular dipolar time correlation function^[65,66] (TCF) $g_2^{\text{OS}}(t)$ given by Equation (13).

$$r_1^{\text{OS}} = \frac{8\pi}{5} \gamma_1^2 \gamma_3^2 \hbar^2 S(S+1) \left[J_{2c}^{\text{OS}} \left(\frac{1}{T_{1e}} + i\omega_1 \right) + \frac{7}{3} \sum_{j=1}^4 w_j J_{2c}^{\text{OS}} \left(\frac{1}{T_{2e,j}} + i\omega_s \right) \right] \quad (11)$$

$$J_{2c}^{\text{OS}}(\sigma) \equiv \frac{10^{-6} N_{\text{Avogadro}}}{Db} \text{Re} \left[\frac{4+x}{3(9+9x+4x^2+x^3)} \right] \quad (12)$$

with $x \equiv \sqrt{\sigma\tau}$

$$g_2^{\text{OS}}(t) \equiv 10^{-6} N_{\text{Avogadro}} \frac{18}{\pi b^3} \int_0^{\infty} \exp\left(-\frac{t}{\tau} x^2\right) \frac{x^2 dx}{81+9x^2-2x^4+x^6} \quad (13)$$

The subscript c of J_{2c}^{OS} indicates that the argument of this function is complex. According to Equations (7) to (13), the zero-field theoretical OS relaxivity r_1^{OS} depends on the five parameters D , b , $1/\tau_{S0}^{\text{eff}}$, a_2 and τ_r . The relative diffusion coefficient D is taken to be the sum of the experimental values of the self-diffusion coefficient D_1 of the probe solute and of the self-diffusion coefficient D_s of LuL, a diamagnetic analogue of GdL that is expected to have the same self-diffusion. Both D_1 and D_s were measured^[27] with the help of pulsed gradient spin-echo (PGSE) sequences.^[71] The collision diameter b of the probe solute and GdL was estimated from compact molecular models. Then, D and b were fixed. The theoretical OS relaxivity r_1^{OS} at zero-field depends only on $1/\tau_{S0}^{\text{eff}}$, which was adjusted so as to reproduce the experimental value. Finally, it should be emphasised that the popular interpretation^[2,5] of the OS relaxivity of the water protons rests on a questionable application of the ABHF model, for which the minimal distance of approach a_{GdH} between the Gd^{III} nucleus and the proton of a noncoordinated water molecule replaces the collision diameter b . Use of an a_{GdH} distance shorter than b results in an ad hoc increase of the theoretical OS relaxivity. This is necessary to account for many effects, such as the packing of the molecules and the eccentricity of the nuclear spins, which are neglected in the ABHF model and lead to a larger OS relaxivity.

Step one of the method consists in measuring the zero-field relaxivity of the protons of an auxiliary probe solute that has a pure OS intermolecular dynamics with respect to the Gd^{III} complex. The rate $1/\tau_{S0}^{\text{eff}}$ is determined as the sole adjustable parameter of the theoretical OS relaxivity r_1^{OS} of the probe solute protons. This avoids having to derive electronic relaxation rates from the questionable SBM expression of $1/T_{1M}$ (see the section Theoretical Basis in the Experimental Section), which in addition has a very rapid variation in r_H^{-6} with the Gd–proton distance r_H allowing one to compensate the defects of the theory by small changes of this distance.

Turning to the practical implementation of step one of the method aimed at determining $1/\tau_{S0}^{\text{eff}}$ with the best possible accuracy. According to Equations (11) and (12), the theoretical OS relaxivity $r_1^{\text{OS}}(B_0=0)$ at zero field is given by Equation (14).

$$r_1^{\text{OS}}(B_0=0) = \frac{16\pi}{3} \gamma_1^2 \gamma_3^2 \hbar^2 S(S+1) \frac{10^{-6} N_{\text{Avogadro}}}{Db} \times \frac{4+x_0}{3(9+9x_0+4x_0^2+x_0^3)} \quad (14)$$

with $x_0 \equiv \sqrt{\tau/\tau_{S0}^{\text{eff}}}$

For the Gd^{III} complexes in water, x_0 is typically of the order of unity, so that $r_1^{\text{OS}}(B_0=0)$ is roughly inversely pro-

portional to b . Any error on this parameter directly affects the zero-field electronic relaxation rate $1/\tau_{\text{SO}}^{\text{eff}}$, the value of which is adjusted so that the theoretical relaxivity $r_1^{\text{OS}}(B_0=0)$ fits its experimental counterpart. To remedy this potential lack of precision, it is preferable to measure the effects of $1/\tau_{\text{SO}}^{\text{eff}}$ to a relative scale of relaxivity. Consider a reference high (h) field $B_{\text{Oh}} \geq 4\text{--}5$ T. At B_{Oh} , we have 1) $\omega_1 \gg 1/T_{1e}$, because the longitudinal electronic relaxation rate $1/T_{1e}$ decreases rapidly with field^[22,63] as B_0^{-2} , and 2) $\omega_s \gg 1/\tau_{\text{SO}}^{\text{eff}} \geq 1/T_{2e}$, because $1/\tau_{\text{SO}}^{\text{eff}}$ is typically^[5] of the order of 10^{10} s^{-1} . The values of the spectral densities of Equation (11) can be approximated as $j_{2c}^{\text{OS}}(1/T_{1e} + i\omega_1) \cong j_{2c}^{\text{OS}}(i\omega_1)$ and $j_{2c}^{\text{OS}}(1/T_{2e,i} + i\omega_s) \cong j_{2c}^{\text{OS}}(i\omega_s)$. Furthermore, because of the inequalities $\omega_s \tau \gg \omega_1 \tau$, $\omega_s \tau \gg 1$, we have: $j_{2c}^{\text{OS}}(i\omega_s) \ll j_{2c}^{\text{OS}}(i\omega_1)$. Then, the theoretical OS relaxivity at B_{Oh} is simply given by Equation (15).

$$r_1^{\text{OS}}(B_{\text{Oh}}) = \frac{8\pi}{5} \gamma_1^2 \gamma_s^2 \hbar^2 S(S+1) j_{2c}^{\text{OS}}(i\omega_1(B_{\text{Oh}})) \quad (15)$$

The relative scale of relaxivity is introduced through the relaxivity ratio q_1^{OS} defined by Equation (16).

$$q_1^{\text{OS}} \equiv \frac{3 r_1^{\text{OS}}(B_0=0)}{10 r_1^{\text{OS}}(B_{\text{Oh}})} \quad (16)$$

Setting $x_0 \equiv \sqrt{\tau/\tau_{\text{SO}}^{\text{eff}}}$ and $x_h \equiv \sqrt{i\omega_1(B_{\text{Oh}})\tau}$, q_1^{OS} simplifies to Equation (17) according to Equations (11), (12), and (15).

$$q_1^{\text{OS}} = \left[\frac{4 + x_0}{9 + 9x_0 + 4x_0^2 + x_0^3} \right] / \text{Re} \left[\frac{4 + x_h}{9 + 9x_h + 4x_h^2 + x_h^3} \right] \quad (17)$$

The value of $1/\tau_{\text{SO}}^{\text{eff}}$ is adjusted so that the theoretical relaxivity ratio q_1^{OS} fits its experimental counterpart.

In step two, the ABHF model of the OS dynamics of GdL with respect to the probe solute is tested together with the electronic relaxation model defined by the relaxation rates $1/T_{1e}$ and $1/T_{2e,i}$ given by Equations (8)–(10). The rotational correlation time τ_2 is estimated from the volume of GdL by using a Stokes-Einstein-like equation to describe the rotational diffusion. The test is to compare the theoretical OS relaxivity r_1^{OS} of the probe solute protons given by Equations (7) to (13) with its experimental counterpart over a large field range.

Step three is to check whether the experimental water proton relaxivity r_1 is satisfactorily represented by the usual Equations (5), (6), (18), (19), and (7)–(13), but with the relaxation rates $1/T_{1e}$ and $1/T_{2e,i}$ given by Equations (8)–(10).

NMRD interpretation: We have applied the above theoretical framework for the interpretation of the relaxivity profiles of $[\text{Gd}(\text{bpatcn})(\text{H}_2\text{O})]$. The neutral *tert*-butyl alcohol $(\text{CH}_3)_3\text{COD}$ molecule was chosen as probe solute for the following three reasons: 1) It has a nearly spherical shape. 2) It carries nine equivalent protons giving rise to a large NMR signal on the FFC relaxometer, even at the used semi-dilute concentration $\cong 0.4 \text{ M}$. This allows one to keep the

concentration of the probe solute low enough for not perturbing the microdynamics of $[\text{Gd}(\text{bpatcn})(\text{H}_2\text{O})]$ significantly. 3) It is expected not to undergo any association with the Gd^{III} complex, so that the proton relaxation mechanism due to this paramagnetic ion is purely OS. The relaxivity profile of the $(\text{CH}_3)_3\text{COD}$ protons in a solution of $[\text{Gd}(\text{bpatcn})(\text{D}_2\text{O})]$ in D_2O at 298 K is shown in Figure 9.

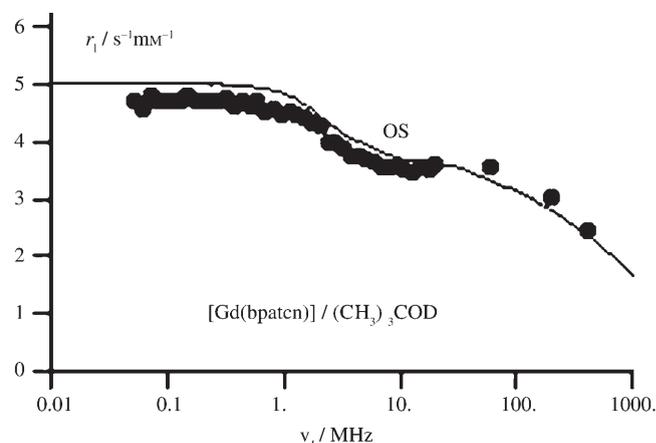


Figure 9. Longitudinal relaxivity r_1 of the protons on the $(\text{CH}_3)_3\text{COD}$ probe solute in a solution of $[\text{Gd}(\text{bpatcn})(\text{D}_2\text{O})]$ in deuterated water at 298 K.

The measured self-diffusion coefficients of $(\text{CH}_3)_3\text{COD}$ and $[\text{Gd}(\text{bpatcn})(\text{D}_2\text{O})]$ are $D_1 = 0.57 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ and $D_5 = 0.37 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$, respectively. The collision diameter of these species is estimated to be $b = 6.5 \text{ \AA}$ to within 10%.

Turn to step one of the method. To determine $1/\tau_{\text{SO}}^{\text{eff}}$ from Equation (17), a reference high-field B_{Oh} is needed. If its value is chosen to be $B_{\text{Oh}} = 9.4 \text{ T}$ ($\nu_1 = 400 \text{ MHz}$), we get $1/\tau_{\text{SO}}^{\text{eff}} = 0.8 \times 10^{10} \text{ s}^{-1}$. Now, change the value of b by 10%. The estimate of $1/\tau_{\text{SO}}^{\text{eff}}$ derived from the relaxivity ratio q_1^{OS} varies by only about 5%. Furthermore, the value of $1/\tau_{\text{SO}}^{\text{eff}}$ derived from q_1^{OS} should be independent of the choice of B_{Oh} to within the experimental accuracy. This can be checked in the case of $B_{\text{Oh}} = 4.7 \text{ T}$ ($\nu_1 = 200 \text{ MHz}$), for which we get the estimate $1/\tau_{\text{SO}}^{\text{eff}} = 0.76 \times 10^{10} \text{ s}^{-1}$, which is equal to the value derived at 400 MHz to within 5%.

In step two of the method, the theoretical OS relaxivity r_1^{OS} of the $(\text{CH}_3)_3\text{COD}$ protons is calculated by Equations (11) and (12), and compared to the experimental data over the whole frequency range. Using molecular models, the minimal distance of approach between the Gd^{III} nucleus and the protons of the probe solute is estimated to be $a_{\text{GdH}}((\text{CH}_3)_3\text{COD}) \cong 4.7 \text{ \AA}$. The electronic relaxation rates $1/T_{1e}$ and $1/T_{2e,i}$ are given by Equations (8)–(10), in which the magnitude of the second-order static ZFS is $a_2 = 0.65 \times 10^{10} \text{ rads}^{-1}$ and the rotational correlation time of $[\text{Gd}(\text{bpatcn})(\text{D}_2\text{O})]$ in D_2O is $\tau_r = 158 \text{ ps}$. The value of a_2 is typical^[21,70] for polyaminocarboxylate complexes of Gd^{III} and is chosen so as to produce the observed decrease of the experimental relaxivity between 1 and 10 MHz. The value

of τ_r was obtained as follows. Consider a sphere $S_{\text{Gd}(\text{bpatcn})}$ having the same volume as the ellipsoid that best approximates $[\text{Gd}(\text{bpatcn})(\text{D}_2\text{O})]$. Let $S_{\text{Gd}(\text{dtpa})}$ be the analogous sphere for $[\text{Gd}(\text{dtpa})(\text{H}_2\text{O})]$, the rotational correlation time of which was estimated to be $\tau_{r,\text{Gd}(\text{dtpa})} \cong 65.8$ ps in H_2O at 298 K by a careful EPR study at various temperatures and fields.^[70] Let d_1, d_2, d_3 be the lengths of the principal axes of the ellipsoids approximating the complexes as defined by compact molecular models. The radius of the sphere having the same volume is simply $a_{\text{complex}} = 0.5\sqrt{d_1 d_2 d_3}$. We measured $a_{\text{Gd}(\text{bpatcn})} \cong 4.8$ Å and $a_{\text{Gd}(\text{dtpa})} \cong 4.0$ Å. The rotational diffusion coefficients $D_{S,\text{Gd}(\text{bpatcn})\text{ in } \text{D}_2\text{O}}^r$ and $D_{S,\text{Gd}(\text{dtpa})\text{ in } \text{H}_2\text{O}}^r$ of the complexes were assumed to obey the Stokes–Einstein-like law, which incorporates a microviscosity factor and was used previously.^[70] The rotational correlation time τ_r of $[\text{Gd}(\text{bpatcn})(\text{D}_2\text{O})]$ was calculated as $\tau_r = (D_{S,\text{Gd}(\text{dtpa})\text{ in } \text{H}_2\text{O}}^r / D_{S,\text{Gd}(\text{bpatcn})\text{ in } \text{D}_2\text{O}}^r) \tau_{r,\text{Gd}(\text{dtpa})}$ by using the radii of the spheres approximating the complexes and the ratio $\eta(\text{D}_2\text{O})/\eta(\text{H}_2\text{O}) = 1.24$ of the viscosities^[72] of D_2O and H_2O . As shown in Figure 9, the theoretical profile is in good agreement with the experimental one.

Step three of the method deals with the relaxivity of the H_2O protons. Since the complex $[\text{Gd}(\text{bpatcn})(\text{H}_2\text{O})]$ in H_2O and its deuterated analogue $[\text{Gd}(\text{bpatcn})(\text{D}_2\text{O})]$ in D_2O have the same volume, their rotational correlation times are proportional to the viscosities of the solvents with the same proportionality constant according to the Stokes–Einstein equation. The ratio of the viscosities^[72] of D_2O and H_2O is $\eta(\text{D}_2\text{O})/\eta(\text{H}_2\text{O}) = 1.24$, so that the rotational correlation time τ_r used in this section for calculating the relaxation rates $1/T_{1e}$ and $1/T_{2e,i}$ by Equations (8)–(10) was $\tau_r = \tau_r(\text{H}_2\text{O}) = \tau_r(\text{D}_2\text{O})/1.24 = 127$ ps. To calculate the IS relaxivity, we used the following IS parameters: The number $q = 1$ of metal-bound water molecules introduced in Equation (6) was derived from independent luminescence decay studies. The Gd–proton distance $r_{\text{H}} = 3.23$ Å used to calculate $1/T_{1M}$ according to Equations (18) and (19) was taken to be in the range of the values^[5,73] generally obtained for the Gd^{III} complexes and compatible with the known X-rays crystal structures. The lifetime τ_M was determined so as to be compatible with general features of the experimental longitudinal and transverse relaxivities r_1 and r_2 of the water protons. Let $\Delta r_1 = r_1(0) - r_1(B_{\text{Oh}})$ be the difference between the values of r_1 at zero field and a high field B_{Oh} corresponding to one of the resonance frequencies $\nu_{\text{lh}} = 200, 400$ or 500 MHz. The differences between the theoretical and experimental values of Δr_1 and r_2 become notable for $\tau_M \geq 4$ μs and increase with τ_M . For instance, if $\tau_M = 4$ μs, the theoretical values of Δr_1 and r_2 are typically about 80% and 93% of their experimental counterparts, when the other molecular parameters keep reasonable values. The growing influence of τ_M , as it becomes longer and longer, and the possibility to discriminate between τ_M values result from the Equation (6) of r_1^{IS} and from a similar equation giving r_2^{IS} . Indeed, as soon as τ_M has a significant duration with respect to T_{1M} and T_{2M} , the dispersion of T_{1M} with field and the difference between T_{1M} and T_{2M} at high field lead to variations of r_1 and r_2 , showing

a dependence on τ_M , which is large enough to discriminate between possible estimates of this lifetime. From the above considerations, τ_M has to be significantly smaller than 4 μs. Besides, for $\tau_M \leq 1$ μs, the theoretical values of Δr_1 and r_2 are typically larger than their experimental counterparts by about 20 and 10%, or more, when the other molecular parameters keep reasonable values. Therefore, the lifetime was estimated to be the geometrical mean of the bounds 1 μs and 4 μs of the interval of its reasonable values, that is, $\tau_M = 2$ μs, which is in the range of known values for this type of complexes.^[2,5] The precise value retained for τ_M in the middle of the range [1, 4 μs] modestly affects the theoretical relaxivities and is not relevant for the interpretation of their experimental counterparts. However, note that the value $\tau_M = 1.7$ μs was obtained from an independent ^{17}O NMR study.^[74] It should be emphasised that the water-exchange lifetime could be reasonably estimated from the present relaxivity data, because of the additional information provided by the probe solute and the high-field T_1 and T_2 measurements. Additional OS parameters are needed to calculate the OS relaxivity. As for the probe solute, the theoretical OS relaxivity r_1^{OS} of the water protons depends on $D, a_{\text{GdH}}, 1/T_{1e}$, and $1/T_{2e,j}$. Again, the relative diffusion coefficient D was taken to be the sum of the self-diffusion coefficients D_1 of water and D_s of $[\text{Gd}(\text{bpatcn})(\text{H}_2\text{O})]$. The self-diffusion coefficient of H_2O in light water was assumed to have its usual measured value $D_1 = 2.3 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$. The self-diffusion coefficient D_s of $[\text{Gd}(\text{bpatcn})(\text{H}_2\text{O})]$ in H_2O was calculated from the measured value of its deuterated analogue $[\text{Gd}(\text{bpatcn})(\text{D}_2\text{O})]$ in D_2O by assuming that it is simply inversely proportional to the solvent viscosity, according to the Stokes–Einstein law for the translational Brownian motion. Thus, $D_s(\text{in } \text{H}_2\text{O}) = 1.24 D_s(\text{in } \text{D}_2\text{O}) = 0.46 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ and $D = 2.75 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$. By using compact molecular models, the minimal distance of approach between the Gd^{III} nucleus and the protons of a non-coordinated water molecule was estimated to be $a_{\text{GdH}} \cong 4.3$ Å. As shown in Figure 10, the theoretical relaxivity profile of the H_2O protons is in good agreement with the experimental

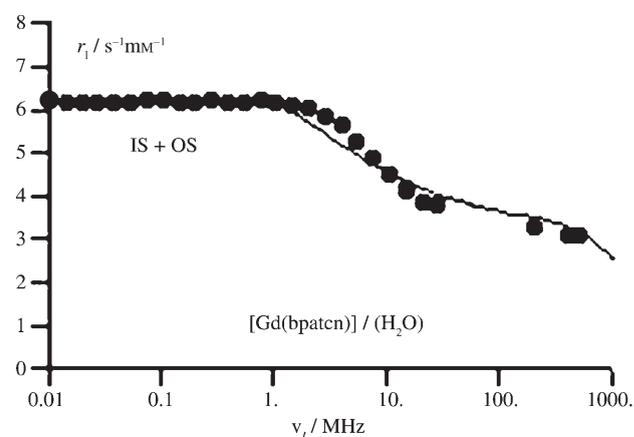


Figure 10. Longitudinal relaxivity r_1 of the H_2O protons in a solution of $[\text{Gd}(\text{bpatcn})](\text{H}_2\text{O})$ in water at 298 K.

one. Furthermore, the theoretical values 4.19, 4.09 $\text{s}^{-1} \text{mm}^{-1}$ of r_2 at 200, 400 and 500 MHz compare favourably with their experimental counterparts 4.04, 3.99 and $4.03 \text{ s}^{-1} \text{mm}^{-1}$.

To compare the new theoretical method presented in this work with the traditional SBM approach, the longitudinal relaxivity r_1 of the H_2O protons in a solution of $[\text{Gd}(\text{bpatcn})(\text{H}_2\text{O})]$ in water at 298 K was also interpreted within the framework of the popular SBM theory,^[2,5] sketched in the Theoretical Basis section (in the Experimental Section). The theoretical curve shown in Figure S4 (in the Supporting Information) was calculated with the parameters reported in the caption and had typical values for a polyaminocarboxylate complex.^[5] It reproduced the experimental data quite satisfactorily. Then, it was tempting to test whether the SBM description of the electronic relaxation of the Gd^{III} spin S , successfully used to interpret the H_2O relaxivity, could also provide a theoretical relaxivity profile of the $(\text{CH}_3)_3\text{COD}$ protons in good agreement with its experimental counterpart of a solution of $[\text{Gd}(\text{bpatcn})(\text{D}_2\text{O})]$ in deuterated water at 298 K. For that purpose, we calculated the McLachlan-type electronic relaxation rates $1/T_{1e}$ and $1/T_{2e}$ involved in the SBM theory and defined by Equations (21)–(23) with the electronic relaxation parameters $\tau_{\text{S0}}(\text{H}_2\text{O}) = 130 \text{ ps}$ and $\tau_{\text{v}}^{\text{ad hoc}} = 25 \text{ ps}$ derived from the interpretation of the H_2O profile. Substituting $1/T_{1e}$ and $1/T_{2e}$ for these particular values in the ABHF OS spectral densities occurring in the general expression of r_1^{OS} as discussed in the Theoretical Basis section (in the Experimental Section), we obtained the ABHF OS relaxivity formula of the $(\text{CH}_3)_3\text{COD}$ protons. Since the relative diffusion coefficient D has the experimental value given in the NMRD Interpretation section, the only adjustable parameter of the ABHF OS formula remains the minimal distance of approach $a_{\text{GdH}}((\text{CH}_3)_3\text{COD})$ between Gd^{III} and the $(\text{CH}_3)_3\text{COD}$ protons. The theoretical SBM relaxivity profile of the $(\text{CH}_3)_3\text{COD}$ protons was fitted to the experimental values as shown in Figure 11. To reproduce the high-frequency data, the minimal distance of approach was taken to be $a_{\text{GdH}}((\text{CH}_3)_3\text{COD}) = 4.55 \text{ \AA}$. Unfortunately, this value is too small for the rather bulky $(\text{CH}_3)_3\text{COD}$ molecule. Furthermore, the electronic relaxation model successfully used for interpreting the water proton relaxivity leads to a relaxivity profile of the $(\text{CH}_3)_3\text{COD}$ protons, displaying low-frequency values, which are too high, and then an unphysical sharp decrease in the range of the proton frequency ν_1 between 1 and 10 MHz. This is a typical example of contradiction raised by the popular SBM approach, which does not properly account for the physical processes underlying the electronic relaxation.

The relaxivity profile of $[\text{Gd}(\text{bpatcn})(\text{H}_2\text{O})]$ is very similar to that observed for the monoqua commercial contrast agent $[\text{Gd}(\text{dtpa})(\text{H}_2\text{O})]^{2-}$. However, the measured electron spin relaxation time at zero field is longer for $[\text{Gd}(\text{bpatcn})(\text{H}_2\text{O})]$ ($\tau_{\text{S0}}^{\text{eff}} = 125 \text{ ps}$) with respect to the dtpa complex ($\tau_{\text{S0}}^{\text{eff}} = 72 \text{ ps}$). Due to the important influence of the coordination environment on the electronic relaxation, very disparate values are found for the electronic relaxation time

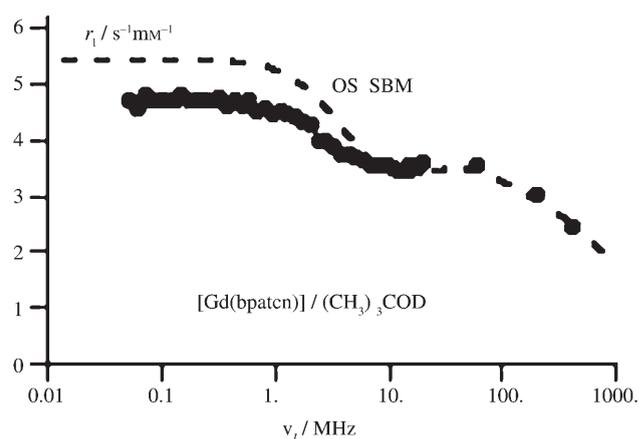


Figure 11. Alternative interpretation of the longitudinal relaxivity r_1 of the protons on the $(\text{CH}_3)_3\text{COD}$ probe solute in a solution of $[\text{Gd}(\text{bpatcn})(\text{D}_2\text{O})]$ in deuterated water at 298 K within the framework of the popular SBM theory^[2,5] sketched in the Theoretical Basis section (in the Experimental Section). The relative diffusion coefficient D has the experimental value given in the NMRD Interpretation section. The parameters of the McLachlan-type electronic relaxation rates adjusted to reproduce the water proton relaxivity of Figure S3 (see Supporting Information) are $\tau_{\text{S0}}(\text{H}_2\text{O}) = 130 \text{ ps}$ and $\tau_{\text{v}}^{\text{ad hoc}} = 25 \text{ ps}$. The adjusted minimal distance of approach between Gd^{III} and the $(\text{CH}_3)_3\text{COD}$ protons is $a_{\text{GdH}}((\text{CH}_3)_3\text{COD}) = 4.55 \text{ \AA}$.

at zero field in gadolinium complexes.^[5,35] Although it is generally accepted that a highly symmetric coordination sphere can lead to slow low-field electronic relaxation, other molecular parameters such as the type of donor atoms^[29] or the complex rigidity can influence the electronic relaxation of gadolinium complexes and make its optimisation difficult. The value of the electron-spin relaxation time at zero field found for the gadolinium complex of the asymmetric ligand bpatcn^{3-} ($\tau_{\text{S0}}^{\text{eff}} = 125 \text{ ps}$) is similar to the value reported for the Gd^{III} complex of the C_3 symmetric ligand nota^{3-} ($\tau_{\text{S0}}^{\text{eff}} = 131 \text{ ps}$).^[35] In spite of the similar molecular symmetry, the complex $[\text{Gd}(\text{tpatcn})]$ shows a much longer value of $\tau_{\text{S0}}^{\text{eff}}$ (1500 ps) with respect to $[\text{Gd}(\text{nota})(\text{H}_2\text{O})_3]$. This value, which is the longest reported to date for a gadolinium complex, was attributed to the presence of an unusually high number of N-donor atoms. The replacement of one picolinate arm in the symmetric ligand H_3tpatcn with one acetate arm leads to a drastic shortening of the electron relaxation time at zero field probably due to the decreased symmetry. However, the electron relaxation rate of $[\text{Gd}(\text{bpatcn})(\text{H}_2\text{O})]$ at zero field is significantly slower than that observed for the $[\text{Gd}(\text{bpeda})(\text{H}_2\text{O})]^-$, which also presents an asymmetric arrangement of the picolinate arms. The difference between these two very similar nine-coordinate gadolinium complexes can be interpreted in terms of a residual local symmetry provided by the triazacyclononane macrocycle in the bpatcn^{3-} . However, the increased structural rigidity and the higher number of N-donor atoms could also have a significant influence and additional studies on related systems are in progress to investigate further the influence of the molecular structure on the electronic relaxation.

Conclusion

The introduction of two picolinate groups and one carboxylate on the triazacyclononane core produces the ligand H₃bpatcn, which binds to lanthanide ions in an octadentate fashion. The presence of two additional pyridine nitrogen atoms leads to an increased stability of the Gd^{III} complexes of H₃bpatcn with respect to those of the analogous ligand H₃nota and improves the selectivity for Gd^{III} over Ca^{II}. The results reported here show that the pyridyl group, when appropriately introduced in the ligand design, is efficient in providing increased selectivity and stability of lanthanide complexes for biomedical applications. The ligand architecture has proved to be well adapted to lanthanide ion complexation, in spite of its asymmetric structure. Accordingly the complexes of bpatcn³⁻ adopt a C₁ symmetric structure in solution in which the macrocyclic framework and the pendant arms remain bound and rigid (for the smaller lanthanide ions) on the NMR timescale, affording enantiomeric pairs. Despite the presence of a coordinated water molecule the molecular architecture of bpatcn³⁻ sensitise Eu^{III} and Tb^{III} luminescence efficiently and yields a terbium complex with long luminescence lifetime and high luminescence quantum yield. The intense luminescence associated to the water solubility and physiological stability indicate that the complex [Tb(bpatcn)(H₂O)] is well adapted for the development of luminescent labels for biomedical applications such as time-resolved fluoroimmunoassays.

The nine-coordinate gadolinium–bpatcn³⁻ complex displays a relaxivity at imaging fields similar to that reported for the commercial contrast agents [Gd(dota)(H₂O)]⁻ and [Gd(dtpa)(H₂O)]²⁻ and to the relaxivity observed for the analogous nine-coordinate complex [Gd(bpdea)(H₂O)]⁻. A new theoretical framework was proposed for the interpretation of the relaxivity profile of the H₂O protons. It is based on an independent experimental determination of the zero-field electronic relaxation rate by using a neutral probe solute that has purely outer-sphere (OS) intermolecular dynamics with respect to the complex. It replaces the Solomon, Bloembergen and Morgan (SBM) framework, which is questionable at low field as evidenced by the poor agreement between the experimental relaxivity profile of the (CH₃)₃COD protons and its theoretical counterpart provided by the SBM description of the electronic relaxation. It avoids resorting to simulations and/or sophisticated theories with additional unknown zero-field splitting (ZFS) parameters.

Moreover, the access to a model-independent experimental determination of the zero-field electronic relaxation rate should help to elucidate the influence of the molecular structure on the electronic relaxation opening an entry into the molecular programming of the electronic relaxation. The comparison of the electronic relaxation rates observed in picolinate complexes shows that in spite of the presence of similar donor atoms, and of the asymmetric coordination polyhedron of both complexes, the electron-spin relaxation time at zero field of the [Gd(bpatcn)(H₂O)] complex is sig-

nificantly longer than in the analogous complex [Gd(bpdea)(H₂O)]⁻. The replacement of one picolinate arm in the symmetric ligand H₃tpatcn with an acetate arm results in an important shortening of the zero-field electronic relaxation time of the [Gd(bpatcn)(H₂O)] complex with respect to the analogous [Gd(tpatcn)] complex; however, the inclusion of picolinate groups on a triazacyclononane framework to afford a monoquo gadolinium complex leads to a more favourable electron relaxation than that of the complex [Gd(bpdea)(H₂O)]⁻. In addition preliminary multifield EPR experiments indicate an electronic relaxation at 1.2 T slower than [Gd(dota)(H₂O)]⁻, the electron-spin relaxation of which is unlikely to limit the attainable relaxivity when included in macromolecular systems. These results show the importance of an appropriate ligand design in the optimisation of the electronic relaxation rate. Moreover the facile functionalisation of bpatcn³⁻ for the access to macromolecular contrast agents with longer correlation times should allow to study the influence of the optimisation of the electronic relaxation on the relaxivity of high molecular weight systems.

Experimental Section

General information: Solvents and starting materials were obtained from Aldrich, Fluka, Acros and Alfa and used without further purification. 6-Chloromethylpyridine-2-carboxylic acid ethyl ester was obtained from the commercially available 2,6-dipicolinic acid according to a published procedure.^[75]

Synthesis of the ligand H₃bpatcn

1,4-Bis[(6-carbethoxy-pyridin-2-yl)methyl]-1,4,7-triazacyclononane (1): 1,4,7-Triazacyclononane trihydrochloride (0.431 g, 1.81 mmol) and K₂CO₃ (1.05 g, 7.62 mmol) were successively added to a solution of 6-chloromethylpyridine-2-carboxylic acid ethyl ester (0.760 g, 3.81 mmol) in anhydrous acetonitrile (50 mL) under argon atmosphere. After stirring at room temperature for one hour, the reaction mixture was refluxed for 18 h. After removal of the inorganic salts by filtration and evaporation of the solvent, the resulting crude product was purified by column chromatography on alumina activity III (50 g, CH₂Cl₂/EtOH 100 to 98/2) to give **1** as a yellow oil (0.193 g, 24%). ¹H NMR (400 MHz, CD₃CN, 298 K): δ = 1.35 (t, *J* = 7.0 Hz, 6H; COOCH₂CH₃), 2.70 (s, 4H; N(CH₂)₂N), 2.83 (t, *J* = 5.2 Hz, 4H; N(CH₂)₂N), 2.92 (t, *J* = 5.2 Hz, 4H; N(CH₂)₂N), 3.92 (s, 4H; NCH₂py), 4.38 (q, *J* = 7.0 Hz, 4H; COOCH₂CH₃), 7.60 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H; CH), 7.75 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H; CH), 7.92 ppm (d, *J* = 7.6 Hz, 2H; CH); ¹³C NMR (100 MHz, CD₃CN, 298 K): δ = 14.51 (primary C), 47.26, 52.15, 53.54, 62.37, 62.84 (secondary C), 124.20, 127.29, 138.46 (tertiary C), 148.43, 161.71, 166.14 ppm (quaternary C); ES-MS: *m/z*: 456.3 [M+H]⁺.

1-Carbethoxymethyl-4,7-bis[(6-carbethoxy-pyridin-2-yl)methyl]-1,4,7-triazacyclononane (2): Ethyl chloroacetate (0.255 g, 2.08 mmol) and K₂CO₃ (0.288 g, 2.08 mmol) were successively added to a solution of **1** (0.860 g, 1.89 mmol) in anhydrous acetonitrile (60 mL). The reaction mixture was refluxed overnight. After filtration and evaporation of the solvent, the resulting crude product was purified by column chromatography on alumina activity III (90 g, CH₂Cl₂/EtOH 100 to 98/2) to produce **2** as a yellow oil (0.568 g, 56%). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, 298 K): δ = 1.29 (t, *J* = 6.8 Hz, 3H; COOCH₂CH₃), 1.46 (t, *J* = 7.2 Hz, 6H; pyCOOCH₂CH₃), 2.91 (s, 4H; N(CH₂)₂N), 2.95 (s, 8H; N(CH₂)₂N), 3.44 (s, 2H; CH₂COOEt), 4.01 (s, 4H; NCH₂py), 4.18 (q, *J* = 6.8 Hz, 2H; COOCH₂CH₃), 4.50 (q, *J* = 7.2 Hz, 4H; pyCOOCH₂CH₃), 7.83 (m, 4H; CH), 8.01 ppm (t, *J* = 4.8 Hz, 2H; CH); ¹³C NMR (100 MHz, CD₃CN, 298 K): δ = 14.54, 14.60 (primary C), 55.29, 56.30, 60.82, 62.25 (secondary

C), 124.11, 127.38, 138.34 (tertiary C), 148.50, 166.19, 172.80 ppm (quaternary C). ES-MS: m/z (%): 542.3 (100) $[M+H]^+$, 564.3 (20) $[M+Na]^+$.

1-Carboxymethyl-4,7-bis[(6-carboxypyridin-2-yl)methyl]-1,4,7-triazacyclononane (H₃bpatcn): A 1 M aqueous solution of potassium hydroxide (6.5 mL) was added to a solution of **2** (0.321 g, 0.570 mmol) in ethanol (10 mL). The reaction mixture was refluxed overnight. After evaporation of the solvent, the resulting oil was dissolved in water and the pH was adjusted to 1.5 by adding a 1.2 M hydrochloric acid solution in water. Slow evaporation of this solution produced the ligand H₃bpatcn·2.5KCl·2HCl·4H₂O as white crystals (0.310 g, 69%). ¹H NMR (400 MHz, D₂O, 298 K, pD 6.4): δ = 3.53 (s, 8H; N(CH₂)₂N), 3.58 (s, 4H; N(CH₂)₂N), 3.83 (s, 2H; CH₂COOH), 4.50 (s, 4H; NCH₂py), 7.58 (d, J = 7.6 Hz, 2H; CH), 7.86 (d, J = 7.6 Hz, 2H; CH), 7.96 ppm (t, J = 7.6 Hz, 2H; CH); ¹³C NMR (100 MHz, D₂O, 298 K): δ = 50.55, 50.98, 51.08, 57.97, 59.03 (secondary C), 125.18, 127.36, 140.66 (tertiary C), 146.42, 153.50, 166.87, 170.51 ppm (quaternary C); ES-MS: m/z (%): 458.2 (100) $[M+H]^+$, 496.2 (20) $[M+K]^+$; elemental analysis calcd (%) for C₂₂H₂₇N₅O₆·2.5KCl·2HCl·4H₂O (788.85): C 33.49, H 4.73, N 8.88; found: C 33.49 H 4.72 N 8.77; the salt content was confirmed by potentiometric titration.

Synthesis of the lanthanide complexes

[Eu(bpatcn)]: A solution of EuCl₃·6H₂O (0.13 mmol) in water (0.4 mL) was added to a solution of H₃bpatcn (0.15 mmol) in water (2 mL). The pH of the resulting mixture was adjusted (pH 7.5) by adding an aqueous KOH solution (1 M). After evaporation of the water the resulting solid was suspended in ethanol (20 mL). The resulting suspension was refrigerated at 4°C overnight and the solid (KCl) was removed by filtration. Slow evaporation of the resulting solution yielded the [Eu(bpatcn)] complex as a white microcrystalline solid (66.3 mg, 65%). ES-MS: m/z (%): 646.0 (100) $[Eu(bpatcn)+K]^+$, 949.1 (78) $[3Eu(bpatcn)+2K]^+$, 1251.0 (75) $[2Eu(bpatcn)+K]^+$; elemental analysis calcd (%) for [Eu(bpatcn)]·4.5H₂O·1.3KCl (784.41): C 33.69, H 4.24, N 8.93; found: C 33.54/33.72, H 4.25/4.36, N 8.86.

[La(bpatcn)] and [Lu(bpatcn)]: The complexes [La(bpatcn)] and [Lu(bpatcn)] were isolated following the same procedure. ES-MS [La(bpatcn)]: m/z (%): 594.2 (100) $[2La(bpatcn)+2H]^+$, 891.1 (28) $[3La(bpatcn)+2H]^+$, 1187.2 (55) $[2La(bpatcn)+H]^+$; ES-MS [Lu(bpatcn)]: m/z (%): 668.2 (100) $[Lu(bpatcn)+K]^+$, 982.9 (18) $[3Lu(bpatcn)+2K]^+$, 1297(18) $[2Eu(bpatcn)+K]^+$.

Solution NMR studies: ¹H and ¹³C NMR spectra were recorded on a Varian Unity 400 spectrometer. Chemical shifts are reported in ppm with solvent as internal reference. The chemical shift of HDO was adjusted as a function of the temperature by using the equation of Nudelman.^[76] The samples of the Ln^{III} (Ln = Lu, La) complexes for the NMR measurements were prepared by dissolving equimolar amounts of the ligand and of the hydrate LnCl₃ in D₂O followed by adjustment of the pD with solutions of NaOD in D₂O. The Eu^{III} samples were prepared by dissolving the appropriate amount of [Eu(bpatcn)]·4.5H₂O·1.3KCl in D₂O. Concentrations in the range of 2×10^{-2} – 4×10^{-2} M were used. The pH values given are corrected for D isotope effects.^[77] The proton resonances were assigned by 2D COSY and NOESY experiments. In the EXSY spectra a 600 ms mixing times was found to give good intensity of cross-peaks.

[La(bpatcn)]: ¹H NMR (400 MHz, D₂O, 298 K, pD = 7.1): δ = 2.40 (br, 2H; CH₂(tcn)), 2.82 (br, 2H; CH₂(tcn)), 3.02 (br, 8H; CH₂(tcn)), 3.35 (s, 2H; H₇), 4.18 (br, 2H; H_{8a}/H_{8b}), 4.68 (d, J = 14.8 Hz, 2H H_{8a}/H_{8b}), 7.74 (d, J = 7.6 Hz, 2H; H₉), 8.07 (d, J = 7.6 Hz, 2H; H₁₁), 8.17 ppm (t, J = 7.6 Hz, 2H; H₁₀).

[Lu(bpatcn)]: ¹H NMR (400 MHz, D₂O, 298 K, pD = 4.2): δ = 2.02 (td, ¹ J = 13.3 Hz, ² J = 5.6 Hz, 1H; CH₂(tcn)), 2.21 (td, ¹ J = 12.9 Hz, ² J = 5.6 Hz, 1H; CH₂(tcn)), 2.50 (dd, ¹ J = 12.9 Hz, ² J = 5.1 Hz, 1H; CH₂(tcn)), 2.63 (dd, ¹ J = 12.9 Hz, ² J = 5.1 Hz, 1H; CH₂(tcn)), 2.77–2.84 (m, 3H; CH₂(tcn)), 2.92 (dd, ¹ J = 16.0 Hz, ² J = 5.5 Hz, 1H; CH₂(tcn)), 3.33, 3.41 (AB system, J_{AB} = 16.0 Hz, 1H; H₇/H₇), 3.44–3.59 (m, 4H; CH₂(tcn)), 4.04, 4.15 (AB system, J_{AB} = 14.8 Hz, 2H; H_{8a}/H_{8b}), 4.27, 4.46 (AB system, J_{AB} = 14.8 Hz, 2H; H_{8a}/H_{8b}), 7.72 (d, J = 7.4 Hz, 1H; H₉), 7.81 (d, J = 7.4 Hz, 1H; H₉), 8.03 (d, J = 7.8 Hz, 1H; H₁₁), 8.08 (d, J = 7.8 Hz, 1H; H₁₁), 8.19 (t, J = 7.4 Hz, 1H; H₁₀), 8.21 ppm (t, J = 7.8 Hz, 1H; H₁₀). ¹H NMR (400 MHz, D₂O, 343 K, pD = 4.2): δ = 1.98 (td, ¹ J = 13.2 Hz, ² J =

5.6 Hz, 1H; CH₂(tcn)), 2.17 (td, ¹ J = 13.4 Hz, ² J = 5.6 Hz, 1H; CH₂(tcn)), 2.48 (dd, ¹ J = 12.4 Hz, ² J = 4.8 Hz, 1H; CH₂(tcn)), 2.62 (dd, ¹ J = 12.4 Hz, ² J = 4.8 Hz, 1H; CH₂(tcn)), 2.80 (m, 3H; CH₂(tcn)), 2.88 (dd, ¹ J = 16.4 Hz, ² J = 5.6 Hz, 1H; CH₂(tcn)), 3.79, 3.86 (AB system, J_{AB} = 27 Hz, 2H; H₇/H₇), 3.45–3.56 (m, 4H; CH₂(tcn)), 4.48, 4.58 (AB system, J_{AB} = 14.6 Hz, 2H; H_{8a}/H_{8b}), 4.70, 4.90 (AB system, J_{AB} = 15.0 Hz, 2H; H_{8a}/H_{8b}), 7.71 (d, J = 7.2 Hz, 1H; H₉), 7.8 (d, J = 7.6 Hz, 1H; H₉), 8.03 (d, J = 7.6 Hz, 1H; H₁₁), 8.09 (d, J = 7.2 Hz, 1H; H₁₁), 8.19 (t, J = 7.2 Hz, 1H; H₁₀), 8.21 ppm (t, J = 7.6 Hz, 1H; H₁₀).

[Eu(bpatcn)]: ¹H NMR (400 MHz, D₂O, 400 MHz, 343 K, pD = 9.1): δ = -11.97 (s, 1H; H₁/H₂), -10.26 (s, 1H; H₃/H₄), -7.26 (s, 1H; H₅/H₆), -4.79 (s, 1H; H₃/H₄), -3.30 (s, 1H; H₁/H₂), -3.16 (s, 1H; H₅/H₆), -0.84 (s, 1H; H_{8a}/H_{8b}), 0.45 (s, 1H; H₁/H₂), 0.52 (s, 1H; H₅/H₆), 0.52 (s, 1H; H₇/H₇), 0.86 (s, 1H; H₅/H₆), 2.26 (s, 1H; H₃/H₄), 2.46 (s, 1H; H₃/H₄), 4.22 (s, 1H; H₇/H₇), 4.35 (s, 1H; H_{8a}/H_{8b}), 5.19 (d, J = 7.2 Hz, 1H; H₁₁), 6.34 (d, J = 7.2 Hz, 1H; H₉), 7.29 (t, J = 7.6 Hz, 1H; H₁₀), 7.41 (d, J = 6.8 Hz, 1H; H₁₁), 7.57 (s, 1H; H_{8a}/H_{8b}), 8.40 (d, J = 7.2 Hz, 1H; H₉), 9.68 (t, J_1 = 7.2 Hz, J_2 = 7.6 Hz, 1H; H₁₀), 11.07 (s, 1H; H_{8a}/H_{8b}), 16.75 ppm (s, 1H; H₁/H₂); ¹H NMR (400 MHz, D₂O, 278 K, pD = 9.1): δ = -15.61 (br, 1H; H₁/H₂), -13.83 (br, 1H; H₃/H₄), -9.65 (s, 1H; H₅/H₆), -7.73 (br, 1H; H₃/H₄), -5.82 (s, 1H; H₁/H₂), -5.56 (s, 1H; H₅/H₆), -0.92 (br, 1H; H_{8a}/H_{8b}), -0.37 (br, 1H; H₁/H₂), -0.37 (br, 1H; H₅/H₆), -0.09 (s, 2H; H₇/H₇), 0.60 (br, 1H; H₅/H₆), 2.09 (br, 1H; H₃/H₄), 3.06 (br, 1H; H₃/H₄), 4.30 (br, 1H; H₇/H₇), 4.71 (br, 1H; H_{8a}/H_{8b}), 5.89 (br, 1H; H₁₁), 6.41 (s, 1H; H₉), 7.22 (s, 1H; H₁₀), 7.59 (s, 1H; H₁₁), 9.08 (br, 1H; H_{8a}/H_{8b}), 9.08 (br, 1H; H₉), 9.22 (br, 1H; H₁₀), 14.71 (br, 1H; H_{8a}/H_{8b}), 21.22 (br, 1H; H₁/H₂).

Assignment of the ¹H NMR spectrum at 278 K was realised by following the chemical shifts of the peaks from 343 K to 278 K. Spectra were recorded at 343, 338, 328, 318, 308, 298, 293, 288, 283 and 278 K respectively.

NMR titrations: 1.8×10^{-2} M solutions of H₃bpatcn were prepared in D₂O in presence of 2,2-dimethyl-2-silapentane-5-sulfonate sodium salt (DSS; 10^{-3} M) as reference. Sample solutions with different pH values were prepared by adding dilute NaOD/D₂O or dilute DCl/D₂O (Aldrich). The pH values of the solutions were determined with a MeterLab, PHM 220 pH Meter. The ionic strength was not adjusted.

X-ray crystallography: The diffraction data of the ligand **3** were taken using a Bruker SMART CCD area detector three-circle diffractometer (MoK α radiation, graphite monochromator, λ = 0.71073 Å). The cell parameters were obtained with intensities detected on three batches of 15 frames with a 10 s exposure time. The crystal-detector distance was 5 cm. Narrow data frames were collected for 0.3° increments in ω with a 60 s exposure time. At the end of data collection, the first 50 frames were re-collected to establish that crystal decay had not taken place during the collection. Unique intensities with $I > 10\sigma(I)$ detected on all frames using the Bruker Smart program^[78] were used to refine the values of the cell parameters. The structure was solved by direct methods using the SHELXTL 5.03 package^[79] and all atoms, including hydrogen atoms, were found by difference Fourier syntheses. All non-hydrogen atoms were anisotropically refined on F^2 . Hydrogen atoms were refined isotropically. CCDC-288655 contains the supplementary crystallographic data for this paper. These data can be obtained free of charge from The Cambridge Crystallographic Data Centre via www.ccdc.cam.ac.uk/data_request/cif.

Potentiometric titrations: The ligand protonation constants and the metal ion stability constant of Gd^{III} with H₃bpatcn were determined by potentiometric titrations. Gd^{III} solutions were prepared by dissolving the appropriate amounts of GdCl₃·6H₂O (Aldrich) in water. The exact Gd³⁺ ion concentration was determined by colourimetric titration in acetate buffer (pH 4.5) by using standardised H₂Na₂(edta) solutions (Aldrich) and xylenol orange as the indicator. Ca^{II} solutions were prepared by dissolving CaCl₂·2H₂O (Aldrich) in water. The exact Ca²⁺ ion concentration was determined by colourimetric titration in water (pH adjusted with KOH at 12.5) using standardised H₂Na₂(edta) solutions (Aldrich) and calgonite as the indicator. Solutions of H₃bpatcn in aqueous 0.1 M KCl (20 mL; 1×10^{-3} M) alone, acidified (pH ~ 2.6) 1:1 Ln:ligand mixtures ([L] 5×10^{-4} M), (pH ~ 3.0) 1:1 Ca:ligand mixtures ([L] 5×10^{-4} M) were titrated

in a thermostated cell (25.0 ± 0.1 °C) under a stream of argon with a 0.1 M KOH solution added by means of a 5 mL piston burette (Metrohm). The ionic strength was fixed with KCl ($\mu = 0.1$ M). Titrations were carried out with a Metrohm 751 GPD Titrino potentiometer equipped with a combined pH glass electrode (Metrohm). Calibration of the electrode system was performed prior to each measurement. The electromotive force is given by $E = E^\circ + sp[H^+]$ and both E° and s were determined by titrating a known amount of HCl by 0.1 M KOH at $\mu = 0.1$ M (KCl), using the acid range of the titration. The value used for the ion product of water was $\log K_w = 13.77$.^[80] More than 55 data points were collected for each experiment.

The data were mathematically treated by the program HYPER-QUAD2000.^[81–82] All values and errors represent the average of at least three independent experiments.

Spectroscopic and analytical measurements: Mass spectra were obtained with a Finnigan LCO-ion trap equipped with an electrospray source. Elemental analyses were performed by the Service Central d'Analyses (Verneuil, France).

Absorption spectra were recorded on Cary 50 Probe UV/Vis spectrometer with Perkin–Elmer Luminescence Cells with a pathlength of 1 cm. Luminescence lifetime measurements were recorded on a Perkin–Elmer LS-50B spectrometer at 293 K (without external temperature regulation). The phosphorescence lifetime (τ_l) was measured by recording the decay at the maximum of the emission spectra. The signals were analysed as single-exponential decays. The instrument settings were as follows: a gate time of 10 ms, an integration time of 1 s, a flash count of 5 and excitation and emission slit widths of 2.5 nm, and a varied delay time. Lifetimes are the average of three independent experiments. Phosphorescence excitation and emission spectra were recorded on the same instrument with a delay of 0.00 ms, a gate time of 10 ms, a cycle time of 200 ms and a flash count of 1. Solutions (10^{−6} M) of [Tb(bptcn)], [Eu(bptcn)], [Tb(dpa)₃]^{3−}, [Eu(dpa)₃]^{3−} (H₂dpa = dipicolinic acid) for quantum yield measurements were prepared in situ by mixing appropriate volumes of Ln^{III} in MilliQ water (the concentration was determined by titration with EDTA in acetate buffer, using xylenol orange as indicator) and bptcn^{3−} (in 0.1 M tris buffer, pH 7.4) or dpa^{2−} (in 0.1 M tris buffer, pH 7.4). Quantum yields ϕ were calculated by using the equation $\phi_x/\phi_r = A_r(\lambda)I_x^2D_x/A_x(\lambda)I_r^2D_r$, in which x refers to the sample, and r , to the reference; A to the absorbance at the excitation wavelength, n to the refractive index and D the integrated emitted intensity. The tris(dipicolinate) complexes [Eu(dpa)₃]^{3−} ($\phi = 13.5\%$, 7.5×10^{-5} M in Tris buffer 0.1 M) and [Tb(dpa)₃]^{3−} ($\phi = 26.5.5\%$, 6.5×10^{-5} M in Tris buffer 0.1 M) were used as references for the determination of quantum yields of respectively Eu- and Tb-containing samples.^[83] The data consistency was checked by measuring the quantum yield of the tris(dipicolinate) against rhodamine 101 ($\phi_{\text{abs}} = 100\%$ in ethanol)^[84] and cresyl violet ($\phi_{\text{abs}} = 54\%$ in methanol).^[84]

Self-diffusion coefficients and NMRD: The samples were prepared in situ by mixing the appropriate amounts of ligand and GdCl₃·6H₂O in 1) MilliQ water followed by adjustment of the pH with NaOH solution in water (pH 7.25, $c_{\text{Gd}} = 4.0$ mM, $c_{\text{bptcn}} = 4.5$ mM); 2) *t*BuOD/D₂O extra pure (99.99% atom D, eurisotop) followed by adjustment of the pD with NaOD solution in D₂O (pD = 6.9, $c_{\text{Gd}} = 4.27$ mM, $c_{\text{bptcn}} = 4.37$ mM, $c_{\text{tBuOD}} = 0.4$ M). Gd^{III} solutions were prepared by dissolving the appropriate amounts of GdCl₃·6H₂O (Aldrich) in water. The exact Gd^{III} ion concentration was determined by colourimetric titration in acetate buffer (pH 4.5) by using standardised H₂Na₂(edta) solutions (Aldrich) and xylenol orange as the indicator. The absence of free gadolinium was checked by the xylenol orange test.^[85]

The self-diffusion coefficients were obtained on a Varian Unity 400 with the help of the simple stimulated-echo experiment with bipolar field gradients^[27] by Jerschow and Müller (see Figure 1b of reference [71]).

The 1/ T_1 NMRD profiles were obtained at 298 K in the range 0.01–28 MHz by using a Spinmaster FFC (fast field cycling) NMR Relaxometer (Stelar, Italy), covering a range of magnetic fields from 2.5×10^{-4} to -0.7 T. The T_1 and T_2 high-field values were measured by the standard inversion-recovery and CPMG sequences^[86] at 200, 400 and 500 MHz on Bruker Avance 200, Varian Unity 400 and Bruker Avance 500 spectrometers, respectively.

To obtain the relaxation rates of the water protons, two solutions of Gd(bptcn) were prepared. A reference solution, in which the solvent was pure light water H₂O, was used for the study at low and intermediate field values on the FFC relaxometer. To avoid the radiation damping occurring in the case of a too intense NMR signal^[87] and to lock the external field at the required spectrometer frequency, an auxiliary solution in a D₂O/H₂O mixture ($\approx 4\%$ atom H) was employed for the high-field T_1 and T_2 measurements of the water protons. According to the relaxivity theories^[2,5] (also see the Relaxivity Theory and Theoretical Basis), the high-field relaxivities r_a ($a = 1, 2$) are expected to be nearly proportional to the solvent viscosity in the solution studied here. Therefore, in the interpretation of the experimental data, the high-field relaxivities $r_a(\text{H}_2\text{O})$ of the water protons in pure H₂O were simply taken to be their counterparts $r_a(\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O})$ in the D₂O/H₂O mixture divided by a factor ≈ 1.22 accounting for the change of viscosity between pure H₂O and the employed D₂O/H₂O mixture.

The interpretation of the relaxivity profile of the water proton was performed within a new theoretical framework. The rationale justifying this theoretical approach is presented in the following section.

Theoretical basis: The Gd^{III}–proton distance of a coordinated water molecule is denoted by r_{H} . The complex was assumed to undergo a Brownian rotational motion, the speed of which was measured by the rotational diffusion coefficient D_s^r . Let $\tau_r = \tau_2 = 1/(6D_s^r)$ be the rotational correlation time of the complex. The intramolecular nuclear relaxation rate $1/T_{1M}$ used in the present work is given by Equation (18) in terms of the IS spectral density $j_{2c}^{\text{IS}}(\sigma)$ defined by Equation (19). In Equation (18), if $1/\tau_M \ll 1/\tau_r$, the argument σ takes the complex values $1/T_{1e} + i\omega_1$ and $1/T_{2e} + i\omega_s$, in which the electronic relaxation rates $1/T_{1e}$ and $1/T_{2e}$ are given by Equations (8)–(10). The spectral density $j_{2c}^{\text{IS}}(\sigma)$ is the real part of the Laplace transform of the (intramolecular) IS dipolar time correlation function (TCF) given by Equation (20).

$$\frac{1}{T_{1M}} = \frac{8\pi}{5} \gamma_I^2 \gamma_S^2 \hbar^2 S(S+1) \left[j_{2c}^{\text{IS}}\left(\frac{1}{T_{1e}} + i\omega_1\right) + \frac{7}{3} \sum_{j=1}^4 w_j j_{2c}^{\text{IS}}\left(\frac{1}{T_{2e}} + i\omega_s\right) \right] \quad (18)$$

$$j_{2c}^{\text{IS}}(\sigma) \equiv \frac{1}{4\pi r_{\text{H}}^6} \text{Re} \left[\frac{1}{(1/\tau_r) + \sigma} \right] \quad (19)$$

$$g_2^{\text{IS}}(t) \equiv \frac{1}{4\pi r_{\text{H}}^6} \exp(-t/\tau_r) \quad (20)$$

The intramolecular relaxation rate $1/T_{1M}$ and the OS relaxivity r_1^{OS} given by Equations (18) and (11), respectively, are similar linear combinations of spectral densities, since they both result from the modulation of the spin l -spin S dipole–dipole Hamiltonian by an isotropic random motion. The form of the IS relaxivity reported in Equation (6) is different, since it accounts for the chemical exchange of the water molecule between the diamagnetic bulk water environment and a coordination site of the paramagnetic metal.

In the popular SBM theory, the “7/3” term of Equation (11) is replaced by $(7/3) j_{2c}^{\text{OS}}(1/T_{2e} + i\omega_s)$, whereas the “7/3” term of Equation (16) is replaced by $(7/3) j_{2c}^{\text{IS}}(1/T_{2e} + i\omega_s)$. Furthermore, the electronic relaxation rates $1/T_{1e}$ and $1/T_{2e}$ follow the simple McLachlan-type^[61] Equations (21) and (22), in which the zero-field electronic relaxation rate $1/\tau_{S0}$ is given in Equation (23) in terms of ad hoc ZFS intensity $\mathcal{A}^{\text{ad hoc}}$ and “vibrational” (ν) correlation time $\tau_\nu^{\text{ad hoc}}$.

$$\frac{1}{T_{1e}} = \frac{1}{\tau_{S0}} \frac{1}{5} \left[\frac{1}{1 + \omega_S^2 (\tau_\nu^{\text{ad hoc}})^2} + \frac{4}{1 + 4\omega_S^2 (\tau_\nu^{\text{ad hoc}})^2} \right] \quad (21)$$

$$\frac{1}{T_{2e}} = \frac{1}{\tau_{S0}} \frac{1}{10} \left[3 + \frac{5}{1 + \omega_S^2 (\tau_\nu^{\text{ad hoc}})^2} + \frac{2}{1 + 4\omega_S^2 (\tau_\nu^{\text{ad hoc}})^2} \right] \quad (22)$$

$$\frac{1}{\tau_{S0}} = \frac{1}{5} (\mathcal{A}^{\text{ad hoc}})^2 \tau_\nu^{\text{ad hoc}} \quad (23)$$

Despite its general acceptance as a reliable framework to interpret relaxivity data, the SBM theory is only approximate. Significant flaws in the

molecular modelling assumed to be at the origin of the relaxivity can be compensated by unphysical variations of its numerous parameters, especially if the latter are not derived from independent observations.^[22,73] Describing the influence of the quantum motion of the electronic spin S on the low-field relaxivity is a difficult task.^[2,5,19,20,22,60,68] At least, two major questions are raised by the use of the McLachlan electronic relaxation times T_{1e} and T_{2e} . The first question concerns the existence of T_{1e} and T_{2e} , which depend on particular time evolutions of the longitudinal and transverse TCFs $\langle S_z(t)S_z \rangle$ and $\langle S_+(t)S_- \rangle$ of the electronic spin components S_α ($\alpha = x, y, z$). It has to be proven that $\langle S_z(t)S_z \rangle$ decreases monoexponentially at a rate given by the longitudinal electronic relaxation time T_{1e} and that $\langle S_+(t)S_- \rangle$ oscillates at the electronic Larmor frequency ω_S with a monoexponential decay characterised by the the transverse electron-relaxation time T_{2e} . Now, the electronic TCFs can display very different time evolutions due to the presence of a time-averaged zero-field-splitting (ZFS) Hamiltonian $\hbar H_{1S}$ acting on the Gd^{III} spin in the molecular frame of the GdL complex.^[19,22] In the molecular frame, this ZFS Hamiltonian is independent of time, and therefore called static (S). In the laboratory frame, its fluctuations due to the Brownian rotation of GdL are the dominant relaxation mechanism at low field, at which they give rise to complicated non-monoexponential decays of the TCFs as soon as the Redfield-Abraham validity condition [Eq. (24)] of the Redfield approximation of the electronic relaxation fails.

$$\|H_{1S}\|\tau_r \ll 1 \quad (24)$$

Then, for example, $1/\tau_{S0}$ is no longer of the form of that given in Equation (23). For a GdL complex, like [Gd(bpatcn)], with a significantly larger size than [Gd(dtpa)]²⁻, the rotational correlation time $\tau_r \geq 100$ ps becomes long enough for condition in Equation (24) not to hold. Therefore, as also discussed in the NMRD Interpretation section, we suggest that the effects of the electronic relaxation at zero field are considered only through an empirical effective electronic relaxation rate $1/\tau_{S0}^{\text{eff}}$. We also assume^[22,63] that the electronic relaxation rate $1/T_{1e}$ is given by Equations (8) and (9), so that its high-field dispersion is similar to that given by Equation (21), but with $\tau_v^{\text{ad hoc}}$ replaced by the rotational correlation time τ_r .

The second major problem posed by the use of T_{1e} and T_{2e} concerns the sole IS relaxivity r_1^S . It is related to the questionable assumption that the quantum motion of the electronic spin S and the Brownian rotation of the Gd^{III}-proton vector \mathbf{r}_H of a coordinated water molecule are uncorrelated (decomposition approximation), though these two intramolecular dynamics depend on the same overall rotational diffusion of the GdL complex! When the quantum motion of S and the spatial Brownian rotation of \mathbf{r}_H are correlated, the intramolecular relaxation rate $1/T_{1M}$ is no longer given by the linear combination [Eq. (18)] of values of the spectral density j_{2e}^S the analytical expression of which results from the sole motion of \mathbf{r}_H and the arguments of which account for the quantum motion of S . The rate $1/T_{1M}$ has to be computed numerically from the time fluctuations of the intramolecular spin l -spin S dipole-dipole Hamiltonian, taking place when the motion of \mathbf{r}_H and the evolution of the quantum states of the spin S are simulated on the same footing.^[20] To sum it up, the theoretical IS relaxivity r_1^S , which is obtained from the expression of $1/T_{1M}$ in Equation (18), is particularly questionable in the low-field regime at which the quantum motion of the electronic spin S is mainly driven by the fluctuations of the static ZFS H_{1S} due to the rotational diffusion of the complex. If a theoretical relaxivity r_1 incorporates such a spurious expression of r_1^S , the values $1/T_{1e}$ ($i = 1, 2$) used to fit r_1 to a low-field experimental relaxivity profile with a significant IS contribution as for water may be particularly unphysical.

To be complete, a possible ad hoc simplification of the theoretical framework used in the present study can be envisaged. As B_0 increases, it was pointed out that a rough description of the time-decay of $G_{\perp}^{\text{nor}}(t)$ should be sufficient to estimate the effects of this decay on the relaxivity. Thus, the weighted sum of four exponentials representing the decay of $G_{\perp}^{\text{nor}}(t)$ in Equation (10) could be replaced by the monoexponential decay of Equation (25), where $1/T_{2e}$ and $1/T_{2e}^{\text{analyt}}$ are defined by Equations (26) and (27).

$$G_{\perp}^{\text{nor}}(t) = \exp(i\omega_S t) \exp(-t/T_{2e}) \quad (25)$$

$$\frac{1}{T_{2e}} = \frac{1}{\tau_{S0}^{\text{eff}}} \tanh \left[\left(\frac{1}{T_{2e}^{\text{analyt}}} \right) / \left(\frac{1}{\tau_{S0}^{\text{eff}}} \right) \right] \quad (26)$$

$$\frac{1}{T_{2e}^{\text{analyt}}} \equiv \sum_{i=1}^4 w_i \frac{1}{T_{2e,i}^{\text{Redfield}}} = \frac{6}{5} \alpha_2^2 \tau_r \left(3 + \frac{5}{1 + \omega_S^2 \tau_r^2} + \frac{2}{1 + 4\omega_S^2 \tau_r^2} \right) \quad (27)$$

Then, as in the popular SBM theory, the “7/3” term of Equation (11) is replaced by (7/3) $j_{2e}^{\text{OS}}(1/T_{2e} + i\omega_S)$, whereas the “7/3” term of Equation (18) is replaced by (7/3) $j_{2e}^{\text{S}}(1/T_{2e} + 1/\tau_M + i\omega_S)$, with $1/T_{1e}$ and $1/T_{2e}$ calculated from Equations (9) and (26), respectively. The numerical diagonalisation of the Redfield matrix of the transverse electronic relaxation^[70] is avoided and a fully analytical formalism is available to interpret the experimental relaxivity. In the case of the present solutions of [Gd(bpatcn)(H₂O)], this formalism leads to relaxivity profiles that are still in reasonable agreement with their experimental counterparts, though the time-decay of $G_{\perp}^{\text{nor}}(t)$ is far from being monoexponential, even for $B_0 \geq 0.1$ T.

Acknowledgements

The interest of Dr. M. Defranceschi in the relaxometric exploration of the microdynamics of lanthanide complexes in solution and the financial support of the Nuclear Energy Division of the CEA for the purchase of the relaxometer are highly appreciated. This research was carried out in the frame of the EC COST Action D-18 “Lanthanide Chemistry for Diagnosis and Therapy” and the European Molecular Imaging Laboratories (EMIL) network. We thank Dr. Lorenzo Di Bari for useful discussions, Pierre Alain Bayle for help with NMR measurements, Colette Lebrun for the ES-MS measurements and Dr. Jacques Pécaut for the X-ray diffraction analysis of the ligand. The hospitality of Prof. Jean-Pierre Cohen-Addad in his NMR laboratory and the advice of Dr. Armel Guilermo for using the Bruker minispec series are also appreciated.

- [1] D. Parker, R. S. Dickins, H. Puschmann, C. Crossland, J. A. K. Howard, *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 1977–2010.
- [2] A. E. Merbach, E. Toth, *The Chemistry of Contrast Agents in Medical Magnetic Resonance Imaging*, Wiley, Chichester, **2001**.
- [3] S. Aime, M. Botta, M. Fasano, E. Terreno, *Chem. Soc. Rev.* **1998**, *27*, 19–29.
- [4] V. Comblin, D. Gilsoul, M. Hermann, V. Humblet, J. Vincent, M. Mesbahi, C. Sauvage, J. F. Desreux, *Coord. Chem. Rev.* **1999**, *185–186*, 451–470.
- [5] P. Caravan, J. J. Ellison, T. J. McMurry, R. B. Lauffer, *Chem. Rev.* **1999**, *99*, 2293–2352.
- [6] “Contrast Agents I”: V. Jacques, J. F. Desreux, in *Top. Curr. Chem.* **2002**, *221*, 123–164.
- [7] T. Gunnlaugsson, J. P. Leonard, *Chem. Commun.* **2005**, 3114–3131.
- [8] J. Chen, P. R. Selvin, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 657–660.
- [9] S. Faulkner, J. L. Matthews, *Comprehensive Coordination Chemistry II, Vol. 9*, Elsevier, Oxford, UK, **2004**.
- [10] N. Weibel, L. J. Charbonnière, M. Guardigli, A. Roda, R. Ziessel, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 4888–4896.
- [11] K. Matsumoto, J. Yuan, *The Lanthanides and Their Interrelation with Biosystems, Vol. 40*, Marcel Dekker, New York, **2003**.
- [12] D. Parker, *Coord. Chem. Rev.* **2000**, *205*, 109–130.
- [13] D. Parker, J. A. G. Williams, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **1996**, 3613–3628.
- [14] J.-C. G. Bünzli, C. Piguet, *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 1897–1928.
- [15] C. Piguet, G. Bernardinelli, G. Hopfgartner, *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 2005–2062.
- [16] J. M. Harrowfield, *The Lanthanides and Their Interrelation with Biosystems, Vol. 40*, Marcel Dekker, New York, **2003**.

- [17] S. Aime, A. Barge, M. Botta, E. Terreno, *The Lanthanides and Their Interrelation with Biosystems, Vol. 40*, Marcel Dekker, New York, **2003**.
- [18] L. Helm, E. Toth, A. E. Merbach, *The Lanthanides and Their Interrelation with Biosystems, Vol. 40*, New York, **2003**.
- [19] D. Kruk, J. Kowalewski, *J. Biol. Inorg. Chem.* **2003**, *8*, 512–518.
- [20] N. Schaeffe, R. Sharp, *J. Chem. Phys.* **2004**, *121*, 5387–5394.
- [21] S. Rast, A. Borel, L. Helm, E. Belorizky, P. H. Fries, A. E. Merbach, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 2637–2644.
- [22] P. H. Fries, E. Belorizky, *J. Chem. Phys.* **2005**, *123*, 124510.
- [23] Y. Bretonnière, M. Mazzanti, F. A. Dunand, A. E. Merbach, J. Pécaut, *Chem. Commun.* **2001**, 621.
- [24] Y. Bretonnière, M. Mazzanti, F. A. Dunand, A. E. Merbach, J. Pécaut, *Inorg. Chem.* **2001**, *40*, 6737–6745.
- [25] N. Chatterton, C. Gateau, M. Mazzanti, J. Pécaut, A. Borel, L. Helm, A. E. Merbach, *Dalton Trans.* **2005**, 1129–1135.
- [26] C. Gateau, M. Mazzanti, J. Pécaut, F. Dunand, A. L. Helm, *Dalton Trans.* **2003**, 2428–2433.
- [27] P. H. Fries, C. Gateau, M. Mazzanti, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 15801–15814.
- [28] C. Platas, M. Mato-Iglesias, K. Djanashvili, N. R. Muller, L. Vander Elst, J. A. Peters, A. de Blas, T. Rodriguez-Blas, *Chem. Eur. J.* **2004**, *10*, 3579–3590.
- [29] A. Borel, H. Kang, R. B. Clarkson, M. Mazzanti, C. Gateau, R. L. Belford, unpublished results.
- [30] N. Chatterton, Y. Bretonnière, M. Mazzanti, J. Pécaut, *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 7767–7770; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2005**, *44*, 7595–7598.
- [31] S. Aime, M. Botta, M. Fasano, M. P. M. Marques, C. F. G. C. Geraldes, D. Pubanz, A. E. Merbach, *Inorg. Chem.* **1997**, *36*, 2059–2068.
- [32] V. Jacques, J. F. Desreux, *Inorg. Chem.* **1994**, *33*, 4048–4053.
- [33] S. Aime, M. Botta, G. Ermondi, *Inorg. Chem.* **1992**, *31*, 4291–4299.
- [34] M. Woods, S. Aime, M. Botta, J. A. K. Howard, J. M. Moloney, M. Navet, D. Parker, M. Port, O. Rousseaux, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 9781–9792.
- [35] L. Di Bari, G. Pintacuda, P. Salvadori, R. S. Dickins, D. Parker, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 9257–9264.
- [36] C. F. G. C. Geraldes, M. C. Alpoim, M. P. M. Marques, A. D. Sherry, M. Singh, *Inorg. Chem.* **1985**, *24*, 3876–3881.
- [37] S. Amin, C. Marks, L. M. Toomey, M. R. Churchill, J. R. Morrow, *Inorg. Chim. Acta* **1996**, *246*, 99–107.
- [38] R. J. Day, C. N. Reilley, *Anal. Chem.* **1965**, *37*, 1326.
- [39] R. J. Day, C. N. Reilley, *Anal. Chem.* **1964**, *36*, 1073.
- [40] P. A. Baisden, G. R. Choppin, B. B. Garrett, *Inorg. Chem.* **1977**, *16*, 1367–1372.
- [41] S. Aime, M. Botta, G. Ermondi, E. Terreno, P. Anelli, F. Fedeli, F. Uggeri, *Inorg. Chem.* **1996**, *35*, 2726–2736.
- [42] L. Tei, G. Baum, A. J. Blake, D. Fenske, M. Schröder, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **2000**, 2793–2799.
- [43] L. Tei, A. J. Blake, M. W. George, J. A. Weinstein, C. Wilson, M. Schröder, *Dalton Trans.* **2003**, 1693–1700.
- [44] R. Yang, L. J. Zompa, *Inorg. Chem.* **1976**, *15*, 1499.
- [45] C. Paul-Roth, K. N. Raymond, *Inorg. Chem.* **1995**, *34*, 1408.
- [46] A. Bianchi, L. Calabi, F. Corana, S. Fontana, P. Losi, A. Maiocchi, L. Paleari, B. Valtancoli, *Coord. Chem. Rev.* **2000**, *204*, 309–393.
- [47] P. Caravan, P. Mehrhodavandi, C. Orvig, *Inorg. Chem.* **1997**, *36*, 1316–1321.
- [48] W. P. Cacheris, S. C. Quay, S. M. Rocklage, *Magn. Reson. Imaging* **1990**, *8*, 467–481.
- [49] D. Parker, J. A. G. Williams, *The Lanthanides and Their Interrelation with Biosystems, Vol. 40*, Marcel Dekker, New York, **2003**.
- [50] I. Hemmilä, S. Webb, *Drug Discovery Today* **1997**, *2*, 373–381.
- [51] A. Beeby, I. M. Clarkson, R. S. Dickins, S. Faulkner, D. Parker, L. Royle, A. S. de Sousa, G. J. A. Williams, M. Woods, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1999**, 493–503.
- [52] W. D. Horrocks, Jr., D. R. Sudnick, *Acc. Chem. Res.* **1981**, *14*, 384–392.
- [53] F. Renaud, C. Piguet, G. Bernardinelli, J.-C. G. Bünzli, G. Hopfgartner, *Chem. Eur. J.* **1997**, *3*, 1660–1667.
- [54] A. Beeby, L. M. Bushby, D. Maffeo, J. A. G. Williams, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **2000**, 1281–1283.
- [55] E. Brunet, O. Juanes, R. Sedano, J.-C. Rodriguez-Ubis, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2002**, *1*, 613–618.
- [56] S. Petoud, S. M. Cohen, J.-C. Bünzli, K. N. Raymond, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 13324–13325.
- [57] R. S. Dickins, J. A. K. Howard, C. Maupin, J. Moloney, D. Parker, J. P. Riehl, G. Siligardi, J. A. G. Williams, *Chem. Eur. J.* **1999**, *5*, 1095–1104.
- [58] B. Alpha, V. Balzani, J.-M. Lehn, S. Perathoner, N. Sabbatini, *Angew. Chem.* **1987**, *99*, 1310–1311; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1987**, *26*, 1266–1267.
- [59] G. Mathis, *Clin. Chem.* **1993**, *39*, 1953–1959.
- [60] J. S. Troughton, M. T. Greenfield, J. M. Greenwood, S. Dumas, A. J. Wiethoff, J. Wang, M. Spiller, T. J. McMurry, P. Caravan, *Inorg. Chem.* **2004**, *43*, 6313–6323.
- [61] A. D. McLachlan, *Proc. R. Soc. London Ser. A* **1964**, *280*, 271–288.
- [62] X. Z. Zhou, P. Caravan, R. B. Clarkson, P. O. Westlund, *J. Magn. Reson.* **2004**, *167*, 147–160.
- [63] E. Belorizky, P. H. Fries, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2004**, *6*, 2341–2351.
- [64] Y. Ayant, E. Belorizky, E. Alizon, J. Gallice, *J. Phys.* **1975**, *36*, 991–1004.
- [65] L. Hwang, J. H. Freed, *J. Chem. Phys.* **1975**, *63*, 4017–4025.
- [66] J. P. Rivet, *J. Chem. Phys.* **2005**, *123*, 034503.
- [67] P. H. Fries, G. Ferrante, E. Belorizky, S. Rast, *J. Chem. Phys.* **2003**, *119*, 8636–8644.
- [68] S. Rast, P. H. Fries, E. Belorizky, A. Borel, L. Helm, A. E. Merbach, *J. Chem. Phys.* **2001**, *115*, 7554–7563.
- [69] L. Banci, I. Bertini, C. Luchinat, *Nuclear and Electronic Relaxation, VCH, Weinheim*, **1991**.
- [70] S. Rast, E. Belorizky, P. H. Fries, *J. Chem. Phys.* **2000**, *113*, 8724–8735.
- [71] A. Jerschow, N. Müller, *J. Magn. Reson.* **1997**, *125*, 372–375.
- [72] Y. Marcus, *Ion Solvation*, Wiley, New York, **1985**.
- [73] L. Vander Elst, M. Port, I. Raynal, C. Simonot, N. R. Muller, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2003**, 2495–2501.
- [74] A. Borel, S. Laus, A. Ozarowski, C. Gateau, A. Nonat, M. Mazzanti, A. E. Merbach, unpublished results.
- [75] R. Fornasier, D. Milani, P. Scrimin, U. Tonellato, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1986**, 233–237.
- [76] H. E. Gottlieb, V. Kotlyar, A. Nudelman, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 7512–7515.
- [77] K. Mikkelsen, S. O. Nielsen, **1960**, *64*, 632.
- [78] Bruker, Madison, WI, USA, **1995**.
- [79] G. M. Sheldrick, 5 ed., University of Göttingen, (Germany), **1994**.
- [80] A. E. Martell, R. M. Smith, *Critical Stability Constants, Vol. 4*, Plenum Press, New York, **1976**.
- [81] P. Gans, A. Sabatini, A. Vacca, *Talanta* **1996**, *43*, 1739–1753.
- [82] P. Gans, A. Sabatini, A. Vacca, University of Leeds and University of Florence, Leeds (UK) and Florence (Italy), **2000**.
- [83] A.-S. Chauvin, F. Gumy, D. Imbert, J.-C. Bünzli, *Spectrosc. Lett.* **2004**, *37*, 517–532.
- [84] D. F. Eaton, *Pure Appl. Chem.* **1988**, *60*, 1107.
- [85] G. Brunisholz, M. Randin, *Helv. Chim. Acta* **1959**, *42*, 1927–1938.
- [86] D. Canet, J. C. Boubel, E. Canet-Soulas, *La RMN: Concepts, Méthodes et Applications*, Dunod, Paris, **2002**.
- [87] A. Abragam, *Les Principes du Magnétisme Nucléaire*, PUF, Paris, **1961**.

Received: November 8, 2005

Revised: February 24, 2006

Published online: June 6, 2006

Structure, Stability, Dynamics, High-Field Relaxivity and Ternary-Complex Formation of a New Tris(aquo) Gadolinium Complex

Aline Nonat, Pascal H. Fries, Jacques Pécaut, and Marinella Mazzanti*^[a]

Abstract: The tripodal hexadentate picolinate ligand dpaa³⁻ (H₃dpaa = *N,N'*-bis[(6-carboxypyridin-2-yl)methyl]glycine) has been synthesised. It can form 1:1 and 1:2 lanthanide/ligand complexes. The crystal structure of the bis(aquo) lutetium complex [Lu(dpaa)(H₂O)₂] has been determined by X-ray diffraction studies. The number of water molecules was determined by luminescence lifetime studies of the terbium and europium complexes. The tris(aquo) terbium complex shows a fairly high luminescence quantum yield (22%). The [Gd(dpaa)(H₂O)₃] complex displays a high water solubility and an increased stability (pGd = 12.3) with respect to the analogous bis(aquo) complex [Gd(tpaa)(H₂O)₂] (pGd = 11.2). Potentiometric and relaxometric studies show the formation of a soluble

Gd^{III} hydroxo complex at high pH values. A unique aquohydroxo gadolinium complex has been isolated and its crystal structure determined. This complex crystallises as a 1D polymeric chain consisting of square-shaped tetrameric units. In heavy water, the [Gd(dpaa)(D₂O)₃] complex shows a quite high HOD proton relaxivity at high field (11.93 s⁻¹ mM⁻¹ at 200 MHz and 298 K) because of the three inner-sphere water molecules. The formation of ternary complexes with physiological anions has been monitored by relaxometric studies, which indicate that even under conditions favourable to the for-

mation of adducts with oxyanions, the mean relaxivity remains higher than those of most of the currently used commercial contrast agents except for the citrate. However, the measured relaxivity ($\bar{r}_1 = 7.9 \text{ s}^{-1} \text{ mM}^{-1}$) in a solution containing equimolar concentrations of [Gd(dpaa)(D₂O)₃] and citrate is still high. The interaction with albumin has been investigated by relaxometric and luminescence studies. Finally, a new versatile method to unravel the geometric and dynamic molecular factors that explain the high-field relaxivities has been developed. This approach uses a small, uncharged non-coordinating probe solute, the outer-sphere relaxivity of which mimics that of the water proton. Only a routine NMR spectrometer and simple mathematical analysis are required.

Keywords: chelates • gadolinium • imaging agents • lanthanides • N ligands

Introduction

Magnetic resonance imaging (MRI) has become one of the most important diagnostic techniques in medicine, and MRI application in molecular imaging is foreseen. Gadolinium complexes are frequently used to improve contrast in medical examinations as a result of their ability to increase the

relaxation rates of water protons in tissue.^[1] All the gadolinium complexes currently used as contrast agents have only one water molecule coordinated to the metal and show low relaxivity ($r_1 = 4.5 \text{ s}^{-1} \text{ mM}^{-1}$; 20 MHz, 298 K) relative to the theoretically attainable maximum. The application of MRI to the detection of a specific molecular target requires the design of contrast agents with much higher relaxivity.^[2-4] For that purpose, all the molecular parameters that determine the relaxivity (the number q of water molecules bound to the gadolinium centre, the longitudinal relaxation time T_{1e} of the metal electronic spin, the rotational correlation time τ_R of the complex and the exchange rate k_{ex} of a coordinated water molecule) should be simultaneously optimised at the desired field.

Of particular current interest is the development of contrast agents that display high relaxivity at the field values of the new imaging instruments (3T–5T). A higher relaxivity can be achieved by increasing the number of water mole-

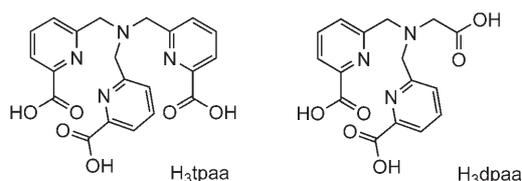
[a] Dr. A. Nonat, Dr. P. H. Fries, Dr. J. Pécaut, Dr. M. Mazzanti
Laboratoire de Reconnaissance Ionique and Chimie de Coordination
Service de Chimie Inorganique et Biologique (UMR-E 3 CEA-UJF)
Département de Recherche Fondamentale sur la Matière Condensée
SCIB/DRFMC/DSM CEA-Grenoble, 17 rue des Martyrs
38054 Grenoble, Cedex 09 (France)
Fax: (+33) 438-785-090
E-mail: marinella.mazzanti@cea.fr

Supporting information for this article is available on the WWW under <http://www.chemeurj.org/> or from the author.

cules in the first coordination sphere and the second-sphere contribution,^[5,6] as these factors are favourable at all field values. Despite the large relaxivity enhancement associated with the increase of the number q of gadolinium-bound water molecules, only limited efforts have been directed to the development of gadolinium complexes with more than one metal-bound water molecule.^[7] This is due to the expected decreased thermodynamic stability of these systems that could lead to toxicity in vivo. In addition, endogenous anions and/or side-chain carboxylate groups of the proteins, such as serum albumin, may cause a partial or total displacement of the coordinated water molecules of the bis- and tris-(aquo) complexes, thus suppressing the relaxivity enhancement benefit as a result of the high number of these water molecules in the free complex.^[8–13] For example, the interaction of the gadolinium complexes of the macrocyclic heptadentate ligand do3a³⁻ (H₃do3a = 1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7-triacetic acid) and its derivatives with carbonate, phosphate, citrate, malonate or lactate groups leads to the displacement of at least one inner-sphere water molecule.^[14,15] Strong phosphate binding dramatically decreases the relaxivity of gadolinium complexes of hexadentate texaphyrins from 17 to 5 s⁻¹ mM⁻¹.^[16]

Over the last few years, however, a small number of very promising $q=2$ gadolinium complexes have been reported.^[17–19] The introduction of three additional carboxylate groups on the heptadentate do3a³⁻ ligand suppresses anionic binding to the gadolinium centre by electrostatic repulsion.^[17] Recent studies of complexes of the tripodal hydroxypyridone (HOPO)-based ligands show that a high number of inner-sphere water molecules does not necessarily imply their ready displacement by physiological anions, even in neutral or cationic complexes.^[20,21] This behaviour indicates that an appropriate choice of the coordination geometry can prevent physiological anion binding in complexes with more than one inner-sphere water molecule and suggests that the tripodal geometry might be particularly suitable for the design of gadolinium-based contrast agents with several inner-sphere water molecules.

Gadolinium complexes of polydentate ligands containing picolinate chelating groups have shown interesting relaxation properties.^[22–28] In particular, the gadolinium complex of the heptadentate tripodal ligand tpa (H₃tpa = $\alpha, \alpha', \alpha''$ -nitriilotri(6-methyl-2-pyridinecarboxylic acid); Scheme 1) containing three picolinate arms connected to a nitrogen atom^[29,30] has a relaxivity more than twofold higher than the relaxivities of the clinically used current contrast agents based on mono-aqua complexes of octa-coordinate ligands.



Scheme 1. Ligands H₃tpaa and H₃dpaa.

However, the in-depth investigation of the properties of this complex and its application as a contrast agent are impossible as a result of its low water solubility. Herein, we describe the synthesis, structure, stability and relaxivity of the new tris(aquo) gadolinium complex of the tripodal hexadentate picolinate ligand dpaa³⁻ (H₃dpaa = N, N' -bis[(6-carboxypyridin-2-yl)methyl]glycine; Scheme 1). The picolinate [Gd(dpaa)(H₂O)₃] complex displays a high water solubility and an increased stability with respect to the [Gd(tpaa)(H₂O)₂] complex in spite of the lower denticity of dpaa³⁻ relative to tpa³⁻. The relaxivity of the 1:2 lanthanide/ligand complex [Gd(dpaa)₂(H₂O)]³⁻ is also described. The relaxivity change induced by most of the physiological anions and bovine serum albumin is investigated by relaxometric and luminescence studies. At a high pH value, a unique aquohydroxo gadolinium complex has been isolated and its crystal structure determined. A new practical method to analyse the geometric and dynamic molecular factors that explain the relaxivities measured at high field is also presented in detail.

Results and Discussion

Synthesis: N, N' -Bis[(6-carboxypyridin-2-yl)methyl]glycine (H₃dpaa) was obtained in two steps with a global yield of 38% from the previously described 6-chloromethylpyridine-2-carboxylic acid ethyl ester. The ¹H NMR spectrum of H₃dpaa in D₂O at pD = 4.7 displays a single set of five signals that imply C_{2v} symmetry. The [Gd(dpaa)(H₂O)₃] and [Lu(dpaa)(H₂O)₂] complexes were prepared by reaction of the corresponding lanthanide chloride and H₃dpaa ligands in water at pH ≈ 5–6 (adjusted with KOH). Satisfactory elemental analyses were obtained after elimination of the salts.

Crystal structure of the dpaa complexes: X-ray-quality crystals of the lutetium complex were obtained by slow evaporation of 1:1 solutions of LnCl₃ and H₃dpaa in water after adjustment of the pH value to 5.27. The ORTEP diagram of [Lu(dpaa)(H₂O)₂] (**2**) is shown in Figure 1 and its crystallographic data are presented in Tables 1 and 2. The Lu ion is octa-coordinate by the hexadentate ligand dpaa and two water molecules. The geometry can be described as a slightly distorted dodecahedron. The crystal structures of the Ln^{III} complexes of the analogous tpa³⁻ ligand^[30] vary along the series with respect to their nuclearity and the number of water molecules coordinated to the metal centre, with a tetrameric structure observed for the La³⁺ ion (nine- and ten-coordinate metal centres), dimeric structures formed from the Nd³⁺ ion through the Yb³⁺ ion (nine-coordinate complexes) and a monomeric structure for the Lu³⁺ ion (eight-coordinate with one bound water molecule). The value of Lu–N_{apical} (2.575(11) Å) in **2** is very similar to the value found for Lu–N_{apical} (2.6071(18) Å) in the eight-coordinate complex [Lu(tpaa)(H₂O)]·4H₂O and for Lu–N_{apical} (2.555(1) Å) in the hepta-coordinate complex [Lu(tpa)Cl₃] (tpa = tris[(2-pyridyl)methyl]amine).^[31] The three arms of the dpaa ligand adopt a pincer-like arrangement around the

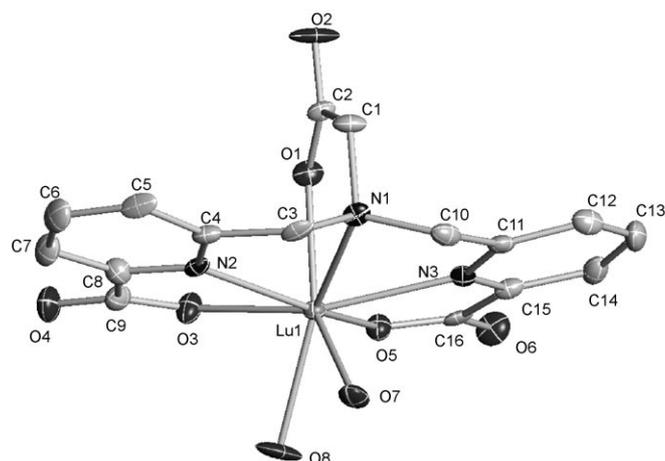


Figure 1. ORTEP diagram of the complex $[\text{Lu}(\text{dpaa})(\text{H}_2\text{O})_2]$ (**2**), with thermal ellipsoids at 30% probability.

Table 1. Crystallographic data for the structures.

	2	3
formula	$\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{LuN}_3\text{O}_{10}$	$\text{C}_{65}\text{H}_{89}\text{Gd}_4\text{N}_{12}\text{Na}_3\text{O}_{45}$
M_r	589.32	2456.46
crystal system	monoclinic	monoclinic
space group	$P2(1)/n$	$P\bar{1}$
a [Å]	8.042(4)	12.440(2)
b [Å]	11.948(7)	13.625(2)
c [Å]	14.985(6)	14.310(2)
α [°]	90	83.439(2)
β [°]	100.40(1)	66.688(2)
γ [°]	90	80.559(2)
V [Å ³ /Z]	1878(3)/4	2194.1(5)/2
λ	0.71073	0.71073
ρ_{calcd} [g cm ⁻³]	1.712	1.859
μ (MoK α) [mm ⁻¹]	1.898	3.101
t [K]	223(2)	223(2)
$R_1, wR_2^{\text{[a]}}$	0.0414, 0.0854	0.0320, 0.0751

[a] Structure was refined on F_0^2 using all data : $wR_2 = [\sum(w(F_0^2 - F_c^2)^2) / \sum w(F_0^2)^2]^{1/2}$, where $w^{-1} = [\Sigma(F_0^2) + (aP)^2 + bP]$ and $P = [\max(F_0^2, 0) + 2F_c^2]/3$.

Table 2. Selected bond lengths [Å] and angles [°] in **2**.

Lu1–O1	2.251(10)	Lu1–O5	2.262(9)	Lu1–O3	2.289(9)
Lu1–O7	2.327(10)	Lu1–O8	2.337(9)	Lu1–N2	2.397(10)
Lu1–N3	2.399(10)	Lu1–N1	2.575(11)		
O1–Lu1–O5	83.2(3)	O1–Lu1–O3	78.7(3)	O5–Lu1–O3	86.3(3)
O1–Lu1–O7	142.5(3)	O5–Lu1–O7	119.2(3)	O3–Lu1–O7	128.7(3)
O1–Lu1–O8	149.2(3)	O5–Lu1–O8	81.1(4)	O3–Lu1–O8	74.0(4)
O7–Lu1–O8	68.1(4)	O1–Lu1–N2	81.7(3)	O5–Lu1–N2	152.1(3)
O3–Lu1–N2	67.9(3)	O7–Lu1–N2	86.4(3)	O8–Lu1–N2	100.5(4)
O1–Lu1–N3	80.9(3)	O5–Lu1–N3	68.4(3)	O3–Lu1–N3	149.0(4)
O7–Lu1–N3	80.7(3)	O8–Lu1–N3	117.0(4)	N2–Lu1–N3	131.3(4)
O1–Lu1–N1	70.9(3)	O5–Lu1–N1	129.7(3)	O3–Lu1–N1	127.2(3)
O7–Lu1–N1	71.8(3)	O8–Lu1–N1	138.3(3)	N2–Lu1–N1	65.9(3)
N3–Lu1–N1	65.5(3)				

metal centre, whereas the three picolinate arms adopt a helical arrangement in the tpaa^{3-} complex. This behaviour does not lead to significant differences in the $\text{Lu}-\text{O}_{\text{carboxy}}$ bond length (mean values: 2.27(2) and 2.30(4) Å in $\text{Lu}(\text{dpaa})$ and $\text{Lu}(\text{tpaa})$, respectively) and the $\text{Lu}-\text{N}$ bond length (mean

values: 2.46(1) and 2.48(9) Å in $\text{Lu}(\text{dpaa})$ and $\text{Lu}(\text{tpaa})$, respectively).

Obtaining crystals of the gadolinium complex at low pH values was prevented by its high water solubility. X-ray-quality crystals of the gadolinium complex were only obtained by slow evaporation of a 1:1 solution of $[\text{Gd}(\text{OTf})_3]$ ($\text{OTf} = \text{triflate}$) and dpaa^{3-} at $\text{pH} \approx 8$. X-ray diffraction studies revealed the presence of two sets of two independent gadolinium complexes connected by bridging carboxylate units to form a centrosymmetric tetramer with a square-shaped arrangement (Figure 2). Both gadolinium complexes are

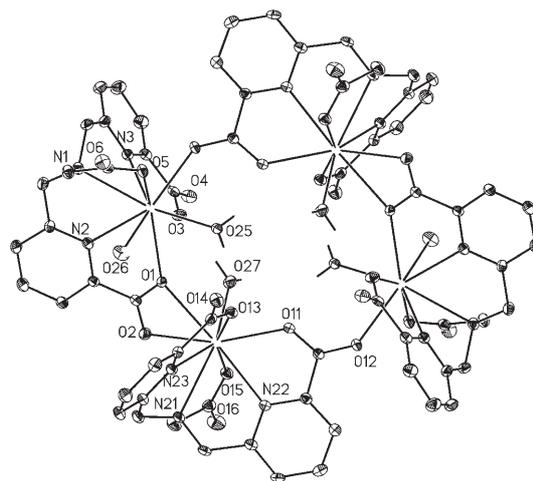


Figure 2. ORTEP diagram of the anion $[[\text{Gd}(\text{dpaa})(\text{H}_2\text{O})_2]_2[\text{Gd}(\text{dpaa})(\text{H}_2\text{O})(\text{OH})]_2]^{2-}$ in **3**, with thermal ellipsoids at 30% probability.

nine-coordinate with a capped square-antiprism geometry, except for Gd1 the polyhedron is very distorted. The Gd2 centre is coordinated by the six donor atoms of the dpaa^{3-} ligand, a water molecule and two oxygen atoms of the picolinate group from one of the adjacent gadolinium complexes. The carboxylate group bridges the two gadolinium ions in a $\mu\text{:}\eta^1\text{:}\eta^2$ fashion. This behaviour suggests that the geometry of the coordinated ligand does not prevent the binding of additional carboxylate groups in a η^2 fashion. The picolinate oxygen atom not involved in the coordination of Gd2 binds the other adjacent Gd1 complex in a $\mu\text{:}\eta^1\text{:}\eta^1$ fashion. The gadolinium ion Gd1 is coordinated by the six donor atoms of the dpaa^{3-} ligand, a picolinate oxygen atom from the adjacent gadolinium complex, one oxygen atom for a water molecule and one oxygen atom from a hydroxide species. The bridging hydroxide moiety is also coordinated to a sodium cation. A six-coordinate sodium centre binds the carboxylate oxygen atoms of two acetate arms from the gadolinium complexes of different tetrameric units, thus leading to the formation of the infinite 1D polymer $[[[\text{Gd}(\text{dpaa})(\text{H}_2\text{O})]_2[[\text{Gd}(\text{dpaa})(\text{H}_2\text{O})(\text{OH})]\text{Na}(\text{H}_2\text{O})_2]_2]_2\text{Na}(\text{OH})(\text{H}_2\text{O})_3\cdot\text{CH}_3\text{OH}\cdot 6\text{H}_2\text{O}]_\infty$ (**3**, see Figure 3 for the ORTEP diagram and Tables 1 and 3 for its crystallographic data).

The four remaining coordination sites of the sodium cation are occupied by two water molecules and a hydroxide

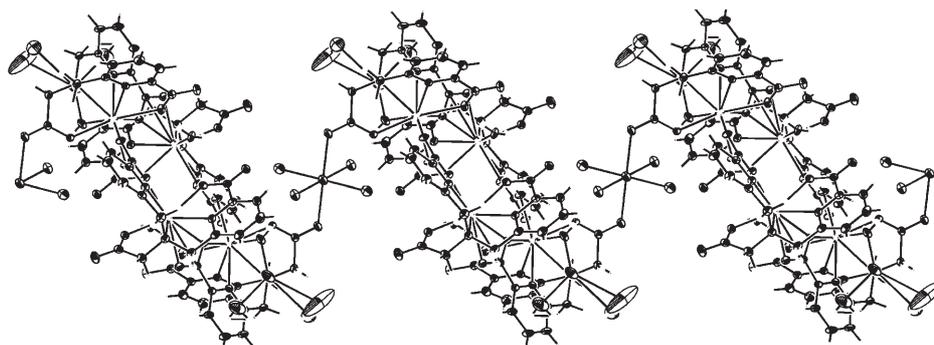


Figure 3. ORTEP diagram of the 1D polymeric structure of **3**, with thermal ellipsoids at 30% probability.

Table 3. Selected bond lengths [Å] and angles [°] in **3**.^[a]

Gd1–O25	2.382(3)	Gd1–O5	2.403(3)	Gd1–O3	2.412(3)
Gd1–O12#1	2.418(3)	Gd1–O26	2.422(3)	Gd1–O1	2.478(3)
Gd1–N2	2.523(3)	Gd1–N3	2.571(3)	Gd1–N1	2.666(3)
Gd2–O15	2.340(3)	Gd2–O11	2.386(3)	Gd2–O27	2.396(3)
Gd2–O13	2.421(3)	Gd2–O2	2.467(3)	Gd2–N23	2.562(3)
Gd2–N22	2.581(3)	Gd2–O1	2.637(3)	Gd2–N21	2.695(3)
O25–Gd1–O5	85.67(11)	O25–Gd1–O3	88.18(11)	O5–Gd1–O3	151.34(10)
O25–Gd1–O12#1	73.44(11)	O5–Gd1–O12#1	71.74(10)	O3–Gd1–O12#1	79.67(10)
O25–Gd1–O26	85.83(12)	O5–Gd1–O26	69.86(11)	O3–Gd1–O26	137.54(11)
O12#1–Gd1–O26	137.37(11)	O25–Gd1–O1	72.25(10)	O5–Gd1–O1	134.99(9)
O3–Gd1–O1	68.30(9)	O12#1–Gd1–O1	133.10(9)	O26–Gd1–O1	69.85(11)
O25–Gd1–N2	136.77(11)	O5–Gd1–N2	119.43(10)	O3–Gd1–N2	83.36(10)
O12#1–Gd1–N2	144.76(10)	O26–Gd1–N2	72.99(11)	O1–Gd1–N2	65.21(10)
O25–Gd1–N3	133.47(11)	O5–Gd1–N3	102.69(10)	O3–Gd1–N3	62.74(10)
O12#1–Gd1–N3	66.49(10)	O26–Gd1–N3	140.27(11)	O1–Gd1–N3	121.10(9)
N2–Gd1–N3	78.29(10)	O25–Gd1–N1	149.15(11)	O5–Gd1–N1	63.55(10)
O3–Gd1–N1	119.63(10)	O12#1–Gd1–N1	97.20(10)	O26–Gd1–N1	81.80(11)
O1–Gd1–N1	128.03(9)	N2–Gd1–N1	65.22(10)	N3–Gd1–N1	61.24(10)
O15–Gd2–O11	86.80(10)	O15–Gd2–O27	80.20(11)	O11–Gd2–O27	70.31(11)
O15–Gd2–O13	159.46(10)	O11–Gd2–O13	73.26(10)	O27–Gd2–O13	97.17(11)
O15–Gd2–O2	81.11(10)	O11–Gd2–O2	151.86(10)	O27–Gd2–O2	82.59(11)
O13–Gd2–O2	118.96(9)	O15–Gd2–N23	128.50(10)	O11–Gd2–N23	126.70(11)
O27–Gd2–N23	142.68(11)	O13–Gd2–N23	64.16(10)	O2–Gd2–N23	79.88(10)
O15–Gd2–N22	70.77(10)	O11–Gd2–N22	63.58(10)	O27–Gd2–N22	125.89(11)
O13–Gd2–N22	95.32(10)	O2–Gd2–N22	133.48(10)	N23–Gd2–N22	89.36(10)
O15–Gd2–O1	122.97(9)	O11–Gd2–O1	119.81(9)	O27–Gd2–O1	66.33(10)
O13–Gd2–O1	73.01(9)	O2–Gd2–O1	51.03(9)	N23–Gd2–O1	77.05(10)
N22–Gd2–O1	164.91(10)	O15–Gd2–N21	66.91(10)	O11–Gd2–N21	127.18(10)
O27–Gd2–N21	139.84(11)	O13–Gd2–N21	121.67(10)	O2–Gd2–N21	70.50(10)
N23–Gd2–N21	61.66(11)	N22–Gd2–N21	4.67(10)	O1–Gd2–N21	112.89(9)

[a] Symmetry transformations used to generate equivalent atoms: #1 $-x+1, -y+1, -z$.

ion. The presence of this hydroxide anion is necessary to balance the complex charge, although the position of the hydroxide species bound to the sodium ion cannot be assigned because the hydrogen atoms of the water molecules and the hydroxide were not localised probably as a result of disorder.

The presence of both the aquo and monohydroxo complexes in a ratio of 1:1 in the structure can be explained by the low solubility of this species and the potentiometric results, which indicate the presence of hydroxo species in solution with water above pH 8 (see below). The formation of soluble lanthanide–hydroxo complexes in the presence of neutral polyaminocarboxylate ligands has been observed in

solution at high pH values.^[32] Furthermore, the self-assembly of dinuclear, tetranuclear and dodecanuclear polynuclear hydroxo complexes has been reported for lanthanide–ethylenediaminetetraacetic acid ($H_4\text{edta}$) complexes under conditions of high pH (pH 13–14).^[33] Mononuclear aquo–hydroxo complexes were suggested as probable intermediates in the mechanism proposed for the self-assembly of tetranuclear polyhydroxo complexes from their corresponding mononuclear aquo–hydroxo complex; however, these intermediates were never isolated. Moreover although several lanthanide–hydroxo complexes have been structurally characterised,^[33–38] this example is a rare as the hydroxo ligand is not bridging two lanthanide centres.^[39]

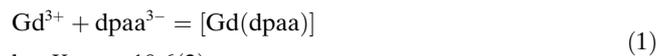
The described structure suggests that the dpaa^{3-} ligand is a very good candidate for use in the ligand-controlled synthesis of polynuclear lanthanide–oxo/hydroxo complexes, and the lanthanide coordination chemistry of this ligand at high pH values could provide new structural motifs.

Protonation and stability constants: The protonation constants of $H_3\text{dpaa}$, defined as $K_{\text{ai}} = [\text{H}_i\text{L}]^{(3-i)-} / [\text{H}_{i-1}\text{L}]^{(4-i)-} [\text{H}^+]$, were determined to be $\text{p}K_{\text{a3}} = 2.9(1)$, $\text{p}K_{\text{a2}} = 3.8(1)$ and $\text{p}K_{\text{a1}} = 7.33(3)$ (0.1 M KCl, 298 K) by potentiometric titration (the titration curves of $H_3\text{dpaa}$ and its Gd^{III} complexes are presented in the Supporting Information).

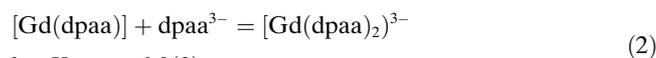
The highest $\text{p}K_{\text{a}}$ value (7.33(3)) may be identified with the protonation of the nitrogen atom of the tertiary amine, followed by the protonation of the carboxylate groups of the picolinate moieties. The protonation of the remaining carboxylate group occurs at a lower pH value, and the associated $\text{p}K_{\text{a}}$ value could not be determined. The values of $\text{p}K_{\text{a2}}$ and $\text{p}K_{\text{a3}}$ are consistent with the values found for the protonation of the picolinate carboxylate moiety in the tripodal ligand $\alpha, \alpha', \alpha''$ -nitrilotri(6-methyl-2-pyridinecarboxylic acid ($H_3\text{tpaa}$; $\text{p}K_{\text{a3}} = 3.3(1)$, $\text{p}K_{\text{a2}} = 4.11(6)$).^[30] The low value of $\text{p}K_{\text{a1}} = 7.33$ relative to the value reported for nitrilotriethanoic acid ($H_3\text{nta}$;

$pK_{a1}=9.75$ ^[40] is due to the presence of two 6-methyl-2-pyridinecarboxylic acid groups and is consistent with the value of $pK_a=7.30$ reported for the nitrogen atom of the secondary amine in bis(2-pyridylmethyl)amine (dpa).^[41]

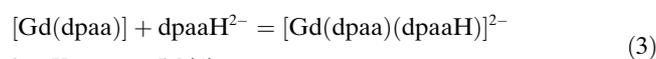
The stability constants of the complexes formed between the Ln^{III} centre (Ln=Gd and Tb) and H₃dpaa were determined by direct titration of 1:1 Gd/H₃dpaa (4.3×10^{-4} M), 1:2 Gd/H₃dpaa (4.4×10^{-4} M), 1:1 Tb/H₃dpaa (3.6×10^{-4} M) and 1:2 Tb/H₃dpaa (1.8×10^{-4} M) mixtures in the pH range 2.5–10.3. The titration data could be fitted to the following equations [Eqs (1)–(3)]:



$$\log K_{\text{GdL}} = 10.6(2)$$



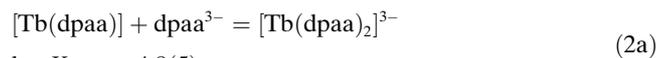
$$\log K_{\text{GdL}_2} = 6.0(3)$$



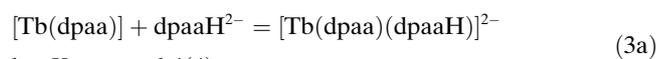
$$\log K_{\text{GdLLH}} = 5.2(4)$$



$$\log K_{\text{TbL}} = 10.4(2)$$



$$\log K_{\text{TbL}_2} = 4.8(5)$$



$$\log K_{\text{TbLLH}} = 6.4(4)$$

The value of $p\text{Gd}=12.3$ ($-\log[M]_{\text{free}}$ at pH 7.4, $[M]_{\text{total}}=1 \mu\text{M}$ and $[\text{dpaa}]_{\text{total}}=10 \mu\text{M}$), which allows a straightforward comparison of the complex stabilities under physiological conditions, is significantly higher than the value found for the tpaa^{3-} complex ($p\text{Gd}=11.2$). The increase in stability is consistent with the overall increase of the ligand pK_a values ($\Sigma pK_a=14.03$ and 9.91 for dpaa^{2-} and tpaa^{3-} , respectively). The titration curves show an inflection point above pH 8, which is due to the formation of hydroxo species above this pH value, as confirmed by simulation of the curves.

The introduction of the additional species $[\text{M}(\text{dpaaOH})]^-$ into the fit of the titration curves does not result in a significant modification of the values of the formation constants of the mono- and bis(ligand) complexes as their formation occurs before pH 8.

The small concentration of hydroxo complex present at the investigated pH region, associated with a probable slow kinetic process, prevents an accurate determination of the formation constant of the hydroxo species. To obtain a better qualitative description of the system, we have, however, included the speciation in a pH range in which the error of the formation constant of the hydroxo complexes has little influence on the amount of hydroxo species present in solution (up to pH 9). The species distribution curves (Figure 4) show that at a stoichiometric 1:1 ratio of Gd/

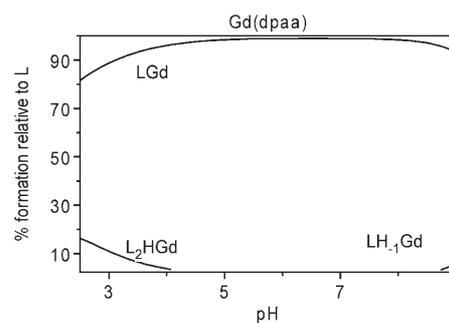


Figure 4. Gadolinium speciation in water (pH 2.5–9) in the presence of dpaa^{3-} for $[\text{Gd}^{3+}]_{\text{tot}} = [\text{dpaa}]_{\text{tot}} = 0.44$ mM. L = ligand.

dpaa^{3-} dissociation of the complex occurs only below pH 4 and that at $\text{pH} > 8$ the soluble hydroxo species $[\text{Gd}(\text{dpaa})(\text{OH})]^-$ begins to form. At a stoichiometric 1:2 ratio of Gd/ligand, the distribution curve (Figure 5) shows that at above pH 7 and $[\text{dpaa}]_{\text{total}} = 0.22$ mM the major solution spe-

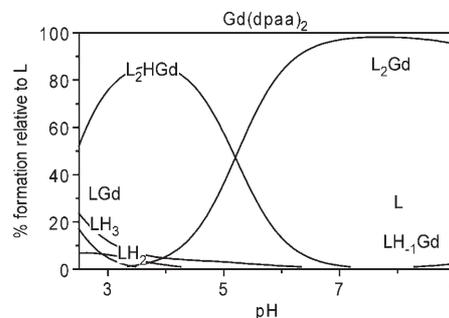


Figure 5. Speciation in water (pH 2.5–9) in the presence of dpaa^{3-} for $[\text{Gd}^{3+}]_{\text{tot}} = 0.22$ mM and $[\text{dpaa}]_{\text{tot}} = 0.44$ mM.

cies is the trianionic bis(ligand) complex $[\text{Gd}(\text{dpaa})_2]^{3-}$ in which all the carboxylate oxygen atoms are deprotonated. Below pH 7, a dianionic monoprotonated form of the bis(ligand) complex is present. This complex is the major species at pH 4. At $\text{pH} \approx 7.5$, the hydroxo species begins to form, thus displacing one dpaa^{3-} ligand. Similar behaviour was observed for the terbium complex, and similar coordination behaviour was previously observed for ternary complexes of lanthanides with polyaminocarboxylate ligands.^[42,43]

Solution structure of the Ln^{III} complexes: The lanthanide complexes of dpaa^{2-} show a very high solubility in water, which is different from the complexes of the heptadentate tpaa^{3-} ligand as they are rather insoluble in water. As in both cases the complexes have neutral charges, the higher solubility probably arises from the removal of one pyridyl ring.

The ¹H NMR spectra (400 MHz) of $[\text{Ln}(\text{dpaa})]$ (Ln=La, Eu, Tb, Lu) complexes in D₂O at pD 6–8 and 298 K show the presence of only one set of signals for the pyridine protons, two signals for the diastereotopic methylene protons close to the pyridine ring and one resonance for the protons of the acetate group. This pattern is consistent with a C_s

symmetry of the species in solution, in which the two picolinate pendant arms are equivalent. The diastereotopic character of the CH₂ protons close to the pyridine ring indicates a long-lived coordination of the nitrogen atom of the ternary amine and is in agreement with a rigid C_s structure in solution. In contrast, for the analogous heptadentate tpaa³⁻ ligand, fluxional C_{3v} species were observed in solution, as a consequence of a rapid interconversion between two different helical conformations (Δ and Λ). The different behaviour observed for the two ligands points to a better metal–ligand complementarity for the dpaa³⁻ complexes.

Solution-structure NMR studies (400 MHz) were carried out on the [Ln(dpaa)₂]³⁻ (Ln=Eu, Tb, Lu) complexes in D₂O at pD 6–8 and 298 K. Broad spectra were obtained for Ln=Tb and Lu, which is in agreement with the presence of conformational equilibria in solution. A more rigid spectrum was observed for the europium complex with more than 17 signals at 298 K for [Eu(dpaa)₂]³⁻ (see the Supporting Information). This pattern indicates the presence of C₁-symmetric species in solution. Signal overlap prevented the attribution of the signals.

The solvation state of the mono- and bis(dpaa) complexes of Eu^{III} and Tb^{III} were studied by comparison of their luminescence decays in H₂O and D₂O. As a result of the different quenching efficiencies of the O–H and O–D oscillators, the measurement of Ln³⁺ phosphorescence lifetimes τ in solutions of H₂O and D₂O allows an accurate estimation of the number of coordinated water molecules present in solution q by using the equation of Beeby et al. ($q = A_{Ln}(1/\tau_{H_2O} - 1/\tau_{D_2O} - \alpha_{Ln})$) with $A_{Tb} = 5$ ms, $A_{Eu} = 1.2$ ms, $\alpha_{Tb} = 0.06$ ms⁻¹ and $\alpha_{Eu} = 0.25$ ms⁻¹,^[44] this equation is a corrected version of the empirical equation of Horrocks and Sudnick,^[45,46] thus accounting for closely diffusing OH oscillators). The observed lifetimes of the Eu(⁵D₀) ($\tau_{H_2O} = 0.307(2)$ ms and $\tau_{D_2O} = 2.53(2)$ ms) and Tb(⁵D₄) ($\tau_{H_2O} = 0.99(1)$ ms and $\tau_{D_2O} = 2.65(3)$ ms) levels for the [Tb(dpaa)] and [Eu(dpaa)] complexes are in agreement with the presence of 3.1 ± 0.2 and 2.9 ± 0.2 coordinated water molecules in the Eu and Tb 1:1 complexes, respectively. A similar number of coordinated water molecules can be expected for the gadolinium ion, which has an ionic radius between those of the Eu and Tb ions. These results indicate the presence of monomeric tris(aquo) species in solution with water. The lifetimes of the Eu(⁵D₀) ($\tau_{H_2O} = 1.11(4)$ ms and $\tau_{D_2O} = 2.43(2)$ ms) and Tb(⁵D₄) ($\tau_{H_2O} = 1.18(4)$ ms and $\tau_{D_2O} = 1.73(7)$ ms) levels measured under conditions ([Eu] ≈ 4.10⁻⁴ M and [dpaa] ≈ 8.8.10⁻⁴ M for Eu; [Tb] ≈ 1.10⁻³ M and [dpaa] ≈ 4.3.10⁻³ M for Tb) in which only the bis(dpaa) complexes [Ln(dpaa)₂]³⁻ are present in solution are in agreement with the presence of 1.06 ± 0.2 and 0.3 ± 0.2 coordinated water molecules in the Tb and Eu complexes, respectively (Table 4). The q values reported for the Eu³⁺ and Tb³⁺ complexes of octadentate and nonadentate polyaminocarboxylate ligands are usually very similar.^[7] However, luminescence decay rates of the free ions Tb³⁺ and Eu³⁺ in mixtures of D₂O and H₂O yielded values of $q = 9$ and 9.6 for terbium and europium, respectively.^[47] Moreover systematic

Table 4. Lifetime and absolute quantum yields in Tris buffer (pH 7.4, 298 K) relative to [Eu(dpaa)₃]³⁻ and [Tb(dpaa)₃]³⁻.

Compound	λ_{exc} [nm]	ϵ [M ⁻¹ cm ⁻¹]	τ_{H_2O} [ms]	τ_{D_2O} [ms]	Θ_{H_2O} [%]	Θ_{D_2O} [%]
dpaa	268	8968	–	–	–	–
[Eu(dpaa)]	272	8940	0.307(2)	2.53(2)	1.5(3)	13(2)
[Tb(dpaa)]	272	8503	0.99(1)	2.65(3)	22(4)	54(8)
[Eu(dpaa) ₂]	271	–	1.11(4)	2.43(2)	–	–
[Tb(dpaa) ₂]	271	–	1.18(4)	1.73(7)	–	–

crystallographic studies of lanthanide complexes show that the change of coordination number occurs at different atomic numbers depending on the coordinated ligand. For example, the change in the number of coordinated water molecules occurs at the Tm centre for [Ln(dota)(H₂O)_x] (dota = 1,4,7,10-tetraazacyclododecane-*N,N',N'',N'''*-tetraacetic acid) complexes,^[48] but at the Gd centre for the series of [Ln(terpyridine)(NO₃)₂(H₂O)_x]NO₃ ($x = 3$ for La–Gd and $x = 2$ for Tb–Lu) complexes.^[49]

The different number of water molecules observed for the bis(dpaa) complexes can be interpreted in terms of important structural differences for these complexes. A possible explanation for the presence of a coordinated water molecule in the terbium complex is that a smaller number of donor atoms of the dpaa ligand is bound to the smaller terbium ion, thus leaving a coordination site available to bind a water molecule. The higher fluxional behaviour of the terbium complex observed by NMR spectroscopic analysis is in agreement with this interpretation.

Important differences in the formation mechanisms of ternary adducts Ln-edta-nta (nta = nitrilotriacetato) have been previously reported along the lanthanide series.^[42,50] The high value of relaxivity measured for [Gd(dpaa)₂]³⁻ ($r_{1p} = 6.4$ mM⁻¹s⁻¹ at 200 MHz, 298 K) is in agreement with the presence of a coordinated water molecule, as observed for the terbium complex.

Relaxometric properties: The efficiency of a Gd^{III} complex to enhance the contrast of T₁-weighted magnetic resonance images is gauged by its relaxivity r_1 , which is defined as the paramagnetic relaxation enhancement of the longitudinal relaxation rate of the water protons as a result of a 1 mM increase in the concentration of this complex at a given temperature and magnetic field.^[1,7,51] The determination and analysis of the relaxometric parameters at high field were performed with a new method, which is described in the Theory Section and provides a simple and straightforward way of characterising the relaxivity performances of new gadolinium complexes at high field.

Relaxivity analysis of the Gd^{III} complexes: The relaxation rates of the HOD and CH₃OD protons were measured at 200 MHz and 298 K in solutions of [Gd(dpaa)(D₂O)₃] and [Gd(dpaa)₂(D₂O)]³⁻ in D₂O (Tables 5 and 6). First, consider the solution of [Gd(dpaa)(D₂O)₃] as a worked example, for which the practical method of using the high-field relaxivity theory presented in the Theory Section is detailed in five

Table 5. The mixed OS proton relaxivities $r_{\text{mix}}^{\text{OS}}$ at 200 MHz of a dilute uncharged probe solute CH₃OD that result from solutions of the complexes [Gd(dpaa)(D₂O)₃] and [Gd(dpaa)₂(D₂O)]³⁻ in D₂O at 298 K.^[a]

	[Gd(dpaa)(D ₂ O) ₃]	[Gd(dpaa) ₂ (D ₂ O)] ³⁻
T_1 [ms]	72.60	85.60
T_2 [ms]	56.90	68.30
$T_{1,\sigma}$ [ms]	56.90	67.60
$r_{\text{mix},2}^{\text{OS}}$ [s ⁻¹ mm ⁻¹]	3.74	3.09
$r_{\text{mix},1,\rho}^{\text{OS}}$ [s ⁻¹ mm ⁻¹]	3.74	3.14
$r_{\text{mix}}^{\text{OS}}$ [s ⁻¹ mm ⁻¹]	3.74	3.12

[a] The concentrations of the complexes [Gd(dpaa)(D₂O)₃] and [Gd(dpaa)₂(D₂O)]³⁻ are 4.26 and 4.25 mM, respectively. The experimental proton relaxation times in the absence of Gd^{III} complexes are $T_{10}=9.43$ s $\cong T_{20} \cong T_{1,\sigma 0}$. The values of $r_{\text{mix},2}^{\text{OS}}$ (respectively $r_{\text{mix},1,\rho}^{\text{OS}}$) are obtained from the measured longitudinal and transverse (respectively longitudinal in the rotating frame) relaxation times T_1 and T_2 (respectively $T_{1,\sigma}$). The arithmetic mean of $r_{\text{mix},2,\rho}^{\text{OS}}$ and $r_{\text{mix},1,\rho}^{\text{OS}}$ is $r_{\text{mix}}^{\text{OS}} \equiv (r_{\text{mix},2}^{\text{OS}} + r_{\text{mix},1,\rho}^{\text{OS}})/2$.

Table 6. Relaxivity properties of the HOD protons at 200 MHz that arise from solutions of the complexes [Gd(dpaa)(D₂O)₃] and [Gd(dpaa)₂(D₂O)]³⁻ in D₂O at 298 K (the rotational correlation time τ_R and coordination lifetime τ_M are also reported).^[a]

	[Gd(dpaa)(D ₂ O) ₃]	[Gd(dpaa) ₂ (D ₂ O)] ³⁻
T_1 [ms]	19.64	31.91
T_2 [ms]	16.42	27.24
r_1 [s ⁻¹ mm ⁻¹]	11.93	7.36
r_2 [s ⁻¹ mm ⁻¹]	14.28	8.62
$r_{\text{mix}}^{\text{OS}}$ [s ⁻¹ mm ⁻¹]	2.84	2.24
r_1^{IS} [s ⁻¹ mm ⁻¹]	9.40	5.45
r_2^{IS} [s ⁻¹ mm ⁻¹]	11.12	6.17
τ_R [ps]	103.00	206.00
τ_M [μs]	0.10	0.45

[a] The concentrations of the complexes [Gd(dpaa)(D₂O)₃] and [Gd(dpaa)₂(D₂O)]³⁻ are 4.26 and 4.25 mM, respectively. The experimental proton relaxation times in the absence of Gd^{III} complexes are $T_{10}=12.5$ s $\cong T_{20}$. The total longitudinal and transverse relaxivities r_1 and r_2 are obtained from the measured relaxation times T_1 and T_2 . The mixed OS relaxivity $r_{\text{mix}}^{\text{OS}}$ is estimated from its counterpart of the CH₃OD protons reported in Table 5, as explained in the relaxivity analysis section. This value is used to derive the longitudinal and transverse OS relaxivities r_1^{OS} and r_2^{OS} , from which the IS contributions r_1^{IS} and r_2^{IS} to the total relaxivities are obtained as differences.

steps. The explanations are self-contained to make the theory readily usable for the characterisation of contrast agents. The complex [Gd(dpaa)(D₂O)₃] is simply denoted by Gd(dpaa) in the mathematical symbols to simplify the notation. The equations are written in terms of the longitudinal and transverse relaxation times T_1 and T_2 , but the same procedure holds when replacing T_2 with $T_{1,\rho}$. The analysis begins with the interpretation of the CH₃OD proton relaxivities, which are of purely outer-sphere (OS) origin, because the inner-sphere (IS) contributions should be negligible as methanol coordinates to the Gd^{III} centre weakly at most.

Step 1 consists of deriving the experimental mixed relaxivity of the methanol (m) CH₃OD protons from Equation (4) [which is the expanded form of Equation (23) from the theory section in terms of directly measured properties]:

$$r_{\text{mix},m}^{\text{OS}}(\infty) = \frac{3}{2} \left[\left(\frac{1}{T_2} - \frac{1}{T_{20}} \right) - \frac{1}{2} \left(\frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_{10}} \right) \right] / [\text{Gd}(\text{dpaa})] \quad (4)$$

where T_1 and T_2 are the experimental CH₃OD proton relaxation times in the solution containing the [Gd(dpaa)(D₂O)₃] complex at the concentration [Gd(dpaa)], whereas T_{10} and T_{20} are the measured values in the absence of the complex. From the experimental values of Table 5, we obtain $r_{\text{mix},m}^{\text{OS}}(\infty) = 3.74$ s⁻¹ mm⁻¹.

Now, turn to the interpretation of the HOD relaxivities. The total longitudinal and transverse relaxivities $r_{1,w} = 11.93$ and $r_{2,w} = 14.28$ s⁻¹ mm⁻¹ are readily obtained by substituting the measured values for the relaxation times T_1 , T_2 , T_{10} and T_{20} of the HOD protons in Equations (5a and b):

$$r_{1,w} = \left(\frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_{10}} \right) / [\text{Gd}(\text{dpaa})] \quad (5a)$$

$$r_{2,w} = \left(\frac{1}{T_2} - \frac{1}{T_{20}} \right) / [\text{Gd}(\text{dpaa})] \quad (5b)$$

The purpose of the following steps of the relaxivity analysis is to disentangle the IS and OS contributions to the total relaxivities $r_{1,w}$ and $r_{2,w}$ to allow a straightforward estimation of their underlying geometric and dynamic molecular factors.

In step 2 the mixed relaxivity $r_{\text{mix},w}^{\text{OS}}(\infty)$ of the HOD protons is calculated from Equation (6) [which is Eq. (25) from the Theory Section] when L = dpaa:

$$r_{\text{mix},w}^{\text{OS}}(\infty) = r_{\text{mix},w}^{\text{OS}}(\infty) \frac{D_{\text{m/Gd}(\text{dtpaa})} b_{\text{m/Gd}(\text{dtpaa})}}{D_{\text{w/Gd}(\text{dtpaa})} b_{\text{w/Gd}(\text{dtpaa})}} \quad (6)$$

where $D_{\text{X/Gd}(\text{dtpaa})}$ and $b_{\text{X/Gd}(\text{dtpaa})}$ are the relative diffusion coefficient and the collision diameter of the X/Gd(dpaa) pair, respectively (X = methanol (m) or water (w)). The relative diffusion coefficient $D_{\text{X/Gd}(\text{dtpaa})}$ is the sum given by Equation (7) of the self-diffusion coefficient D_{X}^{t} of the molecule X and of the self-diffusion coefficient $D_{\text{Gd}(\text{dtpaa})}^{\text{t}}$ of the Gd^{III} complex.

$$D_{\text{X/Gd}(\text{dtpaa})} = D_{\text{X}}^{\text{t}} + D_{\text{Gd}(\text{dtpaa})}^{\text{t}} \quad (7)$$

The self-diffusion coefficients of the uncharged CH₃OD and HOD molecules are independent of the presence of dilute small solutes and have infinite dilution values that can be measured by the pulsed-gradient spin-echo (PGSE) NMR technique,^[52] namely, these values are $D_{\text{m}}^{\text{t}} = 1.13 \times 10^{-5}$ and $D_{\text{w}}^{\text{t}} = 1.85 \times 10^{-5}$ cm² s⁻¹ in D₂O at 298 K. Three different procedures can be used to obtain the relative diffusion coefficients $D_{\text{m/Gd}(\text{dtpaa})}$ and $D_{\text{w/Gd}(\text{dtpaa})}$ involved in Equation (6). In procedure 1, the self-diffusion coefficient $D_{\text{Gd}(\text{dtpaa})}^{\text{t}}$ of the [Gd(dpaa)(D₂O)₃] complex is approximated by that of its Lu^{III} or La^{III} analogue, which is measured^[25,53,54] by the PGSE NMR technique. Then, the relative diffusion coefficients are calculated as the sum of D_{X}^{t} and $D_{\text{Gd}(\text{dtpaa})}^{\text{t}}$ [Eq. (7)]. As a goal of this study is to provide an economical determination of the factors that affect the relaxivity, procedure 1 is not used herein because the accompanying addi-

tional experimental work is not justified by the need of a precise measurement of $D_{\text{Gd}(\text{dtpaa})}^t$, as discussed hereafter. Procedure 2 rests on an a priori estimation of the self-diffusion coefficient $D_{\text{Gd}(\text{dtpaa})}^t$. The studied complex $[\text{Gd}(\text{dpaa})(\text{D}_2\text{O})_3]$ is a small Gd–polyaminocarboxylate complex ($M_r = 500\text{--}750 \text{ g mol}^{-1}$). The self-diffusion coefficients of many complexes of this type were found to be in the range^[54] $(0.45 \pm 0.1) \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ in H_2O at 298 K. According to the Stokes–Einstein law, the corresponding self-diffusion coefficients in D_2O should decrease by the viscosity ratio $\eta(\text{D}_2\text{O})/\eta(\text{H}_2\text{O}) = 1.24$ to take the value $(0.36 \pm 0.08) \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$. In procedure 2, the self-diffusion coefficient $D_{\text{Gd}(\text{dtpaa})}^t$ of $[\text{Gd}(\text{dpaa})(\text{D}_2\text{O})_3]$ in D_2O is simply assumed to have the mean value $0.36 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$. As in procedure 1, the relative diffusion coefficients are calculated as the sum of D_X^t and $D_{\text{Gd}(\text{dtpaa})}^t$ [Eq. (7)]. For its present use in Equation (6), the rough approximation of the self-diffusion coefficient $D_{\text{Gd}(\text{dtpaa})}^t$ of $[\text{Gd}(\text{dpaa})(\text{D}_2\text{O})_3]$ by an experimental mean value for the complexes of this type is sufficiently accurate. Indeed, given the reported self-diffusion coefficients of CH_3OD and HOD , the typical absolute uncertainty of $\pm 0.08 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ of $D_{\text{Gd}(\text{dtpaa})}^t$ gives a negligible relative uncertainty of less than 2% for the ratio $D_{\text{m}/\text{Gd}(\text{dtpaa})}/D_{\text{w}/\text{Gd}(\text{dtpaa})}$ appearing in Equation (6). In procedure 3, the relative diffusion coefficients $D_{\text{m}/\text{Gd}(\text{dtpaa})}$ and $D_{\text{w}/\text{Gd}(\text{dtpaa})}$ are estimated from the measured relaxivities without additional experimental work: First, the relative diffusion coefficient $D_{\text{m}/\text{Gd}(\text{dtpaa})}$ is obtained from the values of $r_{1,\text{m}}^{\text{OS}}(\infty) = (1/T_1 - 1/T_{10})/[\text{Gd}(\text{dpaa})]$ and $r_{\text{mix},\text{m}/\text{Gd}(\text{dtpaa})}^{\text{OS}}$ given by Equation (4) by using Equation (8) [which is equivalent to Eq. (22) in the Theory Section]:

$$D_{\text{m}/\text{Gd}(\text{dtpaa})} = \left[\frac{\lambda_D \sqrt{\pi \nu_I}}{r_{\text{mix},\text{m}}^{\text{OS}}(\infty) - r_{1,\text{m}}^{\text{OS}}(\infty)} \right]^{2/3} \quad (8)$$

where the proton resonance frequency is $\nu_I = 200 \times 10^6 \text{ Hz}$. The $\text{m}/[\text{Gd}(\text{dpaa})(\text{D}_2\text{O})_3]$ relative diffusion coefficient is $D_{\text{m}/\text{Gd}(\text{dtpaa})} = 1.55 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$. As discussed below, this value leads to a reasonable estimate of $D_{\text{Gd}(\text{dtpaa})}^t$, so it is retained to calculate the mixed OS relaxivity of the HOD protons from Equation (6). Second, the $\text{w}/\text{Gd}(\text{dpaa})$ relative diffusion coefficient is obtained from Equation (9):

$$D_{\text{w}/\text{Gd}(\text{dtpaa})} = D_{\text{m}/\text{Gd}(\text{dtpaa})} + D_{\text{w}}^t - D_{\text{m}}^t \quad (9)$$

where $D_{\text{w}/\text{Gd}(\text{dtpaa})} = 2.27 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$. Finally, according to the previous subsection the collision diameters of the $\text{m}/\text{Gd}(\text{dpaa})$ and $\text{w}/\text{Gd}(\text{dpaa})$ pairs estimated from compact molecular models are $b_{\text{m}/\text{Gd}(\text{dtpaa})} = 6.1$ and $b_{\text{w}/\text{Gd}(\text{dtpaa})} = 5.5 \text{ \AA}$. The mixed OS relaxivity ($r_{\text{mix},\text{w}}^{\text{OS}}(\infty) = 2.84 \text{ s}^{-1} \text{ mM}^{-1}$) of the HOD protons is now readily computed from Equation (6). Again, it should be emphasised that errors in the estimates of the radius and self-diffusion coefficients of a Gd–L complex cancel out to a large extent in the ratios $b_{\text{m}/\text{GdL}}/b_{\text{w}/\text{GdL}}$ and $D_{\text{m}/\text{GdL}}/D_{\text{w}/\text{GdL}}$, so that the determination of $r_{\text{mix},\text{w}}^{\text{OS}}$ from $r_{\text{mix},\text{m}}^{\text{OS}}$ should be accurate.

Though it is not necessary for the present analysis, the self-diffusion coefficient $D_{\text{Gd}(\text{dtpaa})}^t$ of $[\text{Gd}(\text{dpaa})(\text{H}_2\text{O})_3]$ can be readily estimated from the relaxivity measurements as follows: From the use of the retained value $D_{\text{m}/\text{Gd}(\text{dtpaa})} = 1.55 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ of the $\text{m}/\text{Gd}(\text{dpaa})$ relative diffusion coefficient, we have $D_{\text{Gd}(\text{dtpaa})}^t = D_{\text{m}/\text{Gd}(\text{dtpaa})} - D_{\text{m}}^t = 0.42 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$. This result is in satisfactory agreement with the value $(0.36 \pm 0.08) \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ previously derived from the self-diffusion coefficients in solutions of gadolinium complexes of sizes similar to that of the studied complex in light water.^[54] However, note that the $D_{\text{m}/\text{Gd}(\text{dtpaa})}$ value was calculated from the difference $r_{\text{mix}}(\infty) - r_1$, which has a large percentage error, because $r_{\text{mix}}(\infty)$ and r_1 have near values, as the $D_{\text{m}/\text{Gd}(\text{dtpaa})}$ value is rather large and the ν_I value is rather small. Then, the accuracy of the $D_{\text{Gd}(\text{dtpaa})}^t$ value is not better than 30%. An improved accuracy could be obtained either from a relaxation study at a higher frequency or by replacing CH_3OD with another probe solute, such as *tert*-butanol(OD) of slower self-diffusion.

Step 3 is an application of Equation (22) to the determination of the OS relaxivities of the HOD protons. In this case, Equations (22a and b) can be rewritten as Equations (10a and b):

$$r_{1,\text{w}}^{\text{OS}} = r_{\text{mix},\text{w}}^{\text{OS}}(\infty) - (\lambda_D / D_{\text{w}/\text{Gd}(\text{dtpaa})}^{3/2}) \sqrt{\pi \nu_I} \quad (10a)$$

$$r_{2,\text{w}}^{\text{OS}} = \frac{7}{6} r_{\text{mix},\text{w}}^{\text{OS}}(\infty) - \frac{1}{2} (\lambda_D / D_{\text{w}/\text{Gd}(\text{dtpaa})}^{3/2}) \sqrt{\pi \nu_I} \quad (10b)$$

The relaxivities $r_{1,\text{w}}^{\text{OS}} = 2.53$ and $r_{2,\text{w}}^{\text{OS}} = 3.16 \text{ s}^{-1} \text{ mM}^{-1}$ of the HOD protons are calculated from the previous determinations of the mixed relaxivity $r_{\text{mix},\text{w}}^{\text{OS}}(\infty) = 2.84 \text{ s}^{-1} \text{ mM}^{-1}$ and the relative diffusion coefficient $D_{\text{w}/\text{Gd}(\text{dtpaa})} = 2.27 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$.

In step 4, the experimental IS relaxivities are obtained from the measured relaxation times T_1 , T_2 , T_{10} and T_{20} of the HOD protons by using Equations (11) [which is equivalent to Equation (17)]:

$$r_{1,\text{w}}^{\text{IS}} = r_{1,\text{w}} - r_{1,\text{w}}^{\text{OS}} \quad (11a)$$

$$r_{2,\text{w}}^{\text{IS}} = r_{2,\text{w}} - r_{2,\text{w}}^{\text{OS}} \quad (11b)$$

The values $r_{1,\text{w}}^{\text{IS}} = 9.40$ and $r_{2,\text{w}}^{\text{IS}} = 11.12 \text{ s}^{-1} \text{ mM}^{-1}$ stem readily from Equation (11).

Finally, step 5 is the evaluation of the geometric and dynamic factors that are at the origin of the water-proton high-field relaxivity and have not yet been determined. To begin with, consider the IS relaxivity values of the HOD proton, which are well reproduced to within a few percent by their theoretical counterparts derived from the standard Equations (18)–(20), with a rotational correlation time $\tau_{\text{R,Gd}(\text{dtpaa})} = 103 \text{ ps}$, a coordination lifetime $\tau_{\text{M,Gd}(\text{dtpaa})} = 0.1 \text{ \mu s}$ and a number of coordinated water molecules $q_{\text{Gd}(\text{dpaa})} = 3$, in agreement with the value measured independently by luminescence studies for the europium centre in terbium com-

plexes. The theoretical results are summarised in Table 6. Note that the uncertainty of the rotational correlation time can be mainly ascribed to that of the probable value^[55] $r_{\text{H}} = 3.1 \text{ \AA}$ of the Gd–proton distance. It is also useful to estimate the precision of the method for evaluating the lifetime τ_{M} in the case of $[\text{Gd}(\text{dpaa})(\text{H}_2\text{O})_3]$, which is particularly unfavourable because τ_{M} is significantly shorter than $T_{1\text{M}} \cong T_{2\text{M}} \cong 5 \text{ \mu s}$, so that its variation weakly affects the r_1^{IS} and r_2^{IS} theoretical values given by Equation (18). The experimental precision of T_1 is typically 0.5–1% and that of T_2 or $T_{1\text{p}}$ is 1–1.5%. Simple inspection of the equations that lead to the estimates of the r_1^{IS} and r_2^{IS} values shows that their cumulative errors are about 2 and 3%, respectively. The τ_{M} values inserted in Equation (18), which give theoretical relaxivities r_1^{IS} and r_2^{IS} compatible with their experimental counterparts to within the previous percentage errors of 2 and 3%, lie in the range $0 \cong \tau_{\text{M}} \cong 0.23 \text{ \mu s}$, namely, $\tau_{\text{M}} \cong 0.1 \pm 0.1 \text{ \mu s}$. Thus, the exchange (ex) rate $k_{\text{ex}} = 1/\tau_{\text{M}}$ of the coordinated water molecules is at least rather fast. The value $\tau_{\text{M}} = 0.23 \text{ \mu s}$ seems an upper limit beyond which the theoretical predictions do not agree with the experimental values of r_1^{IS} and r_2^{IS} . On the other hand, a very short coordination lifetime down to $\tau_{\text{M}} = 0.01 \text{ \mu s}$ should not be completely ruled out, even if the range of τ_{M} values $0.05 \cong \tau_{\text{M}} \cong 0.15 \text{ \mu s}$, for which the theoretical relaxivities r_1^{IS} and r_2^{IS} are equal to the experimental values given in Table 6 to within 1 and 1.5%, respectively, is more reasonable. It is worth noting that a preliminary interpretation of ¹⁷O NMR spectroscopic measurements in light water^[56] leads to a τ_{M} value shorter than 0.1 \mu s , in agreement with the present discussion. In further work, the accuracy of the present route to τ_{M} determination will be compared to the accuracy of the well-established ¹⁷O NMR spectroscopic method^[56,57] for several Gd^{III} complexes.

The longitudinal water proton relaxivity $r_{1,\text{w}}(\text{H}_2\text{O}) = 9.62 \text{ s}^{-1} \text{ mm}^{-1}$ that arises from the tris(aquo) complex $[\text{Gd}(\text{dpaa})(\text{H}_2\text{O})_3]$ in H_2O can be estimated by dividing the D_2O value reported in Table 6 by the viscosity ratio $\eta(\text{D}_2\text{O})/\eta(\text{H}_2\text{O}) = 1.24$. It is approximately 2.5 times higher than that of most of the currently used commercial contrast agents. This high relaxivity is associated with the presence of three IS water molecules. A lower relaxivity ($r_1 = 7.15 \text{ s}^{-1} \text{ mm}^{-1}$ at 20 MHz and 313 K) was measured for the tris(aquo) complex $[\text{Gd}(\text{edta})]^-$ in H_2O .^[58] The relaxivity as a result of the $[\text{Gd}(\text{dpaa})(\text{D}_2\text{O})_3]$ complex is constant between pD = 5.5 and 7.7 ($r_1 \cong 11.8 \text{ s}^{-1} \text{ mm}^{-1}$ in D_2O at 200 MHz), whereas a lower value of $r_1 \cong 9.30 \text{ s}^{-1} \text{ mm}^{-1}$ is measured at a basic pD value (11.6), in agreement with the presence of hydroxo species at this pD value with only two Gd^{III}-bound water molecules.

The analysis of the relaxivities for the $[\text{Gd}(\text{dpaa})_2(\text{D}_2\text{O})]^{3-}$ complex, also denoted by $\text{Gd}(\text{dpaa})_2$, is similar to that carried out for $[\text{Gd}(\text{dpaa})(\text{D}_2\text{O})_3]$. In addition, two simplifying hypotheses are made: 1) The volume of $\text{Gd}(\text{dpaa})_2$ is twice that of $\text{Gd}(\text{dpaa})$, so that the radius of $\text{Gd}(\text{dpaa})_2$ is 5.1 \AA , as mentioned previously. 2) The standard Stokes–Einstein laws of translational and rotational diffusion of large species

are valid so that the self-diffusion coefficient $D_{\text{Gd}(\text{dpaa})_2}^{\text{t}} = 0.33 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ of $\text{Gd}(\text{dpaa})_2$ is that of $\text{Gd}(\text{dpaa})$ divided by $2^{1/3}$ and its rotational correlation time $\tau_{\text{R,Gd}(\text{dpaa})_2} = 206 \text{ ps}$ is twice that of $\text{Gd}(\text{dpaa})$. The experimental mixed OS relaxivity $r_{\text{mix,m}}^{\text{OS}} = 3.12$ of the CH_3OD protons is derived from the measured relaxation times with the help of Equation (23) or (4) adapted for $\text{Gd}(\text{dpaa})_2$. The relaxivities $r_{1,\text{m}}^{\text{OS}}$, $r_{2,\text{m}}^{\text{OS}}$ or $r_{1,\text{p,m}}^{\text{OS}}$ obtained from the definition given by Equation (15) satisfy Equation (22) with the mixed relaxivity and the relative diffusion coefficient of the pair to within the experimental errors. Then, the experimental mixed OS relaxivity $r_{\text{mix,w}}^{\text{OS}}$ of the HOD proton is obtained by applying Equation (6) adapted for $\text{Gd}(\text{dpaa})_2$. The OS relaxivities $r_{1,\text{w}}^{\text{OS}}$ and $r_{2,\text{w}}^{\text{OS}}$ of the HOD protons are given by Equation (22) or (10) adapted for $\text{Gd}(\text{dpaa})_2$. The total relaxivities $r_{1,\text{w}}$ and $r_{2,\text{w}}$ are obtained from their definition given by Equation (15). The IS relaxivities $r_{1,\text{w}}^{\text{IS}}$ and $r_{2,\text{w}}^{\text{IS}}$ follow from Equations (17) or (11). They can be interpreted by the standard IS relaxation model of Equations (18)–(20) with $\tau_{\text{R,Gd}(\text{dpaa})_2} = 206 \text{ ps}$, a coordination lifetime of $\tau_{\text{M,Gd}(\text{dpaa})_2} = 0.45 \text{ \mu s}$ and a number of coordinated water molecules $q_{\text{Gd}(\text{dpaa})_2} = 1$. This number of water molecules is in agreement with the value measured by luminescence for the terbium complex (Table 6). The coordination lifetime $\tau_{\text{M}} = 0.1 \text{ \mu s}$ is reasonable for $[\text{Gd}(\text{dpaa})(\text{H}_2\text{O})_3]$ as a ligand-like dpaa^{3-} allows rather large free access of the Gd^{III} ion to the water molecules. When the Gd^{III} centre in $[\text{Gd}(\text{dpaa})_2(\text{H}_2\text{O})]^{3-}$ is complexed by two ligands, there is less free access and the τ_{M} value increases to 0.45 \mu s .

The rotational correlation times derived from the previous analysis are for the complexes in D_2O . Their counterparts in H_2O should be shorter by the factor $\eta(\text{D}_2\text{O})/\eta(\text{H}_2\text{O}) = 1.24$. They are expected to be 83 and 166 ps for $[\text{Gd}(\text{dpaa})(\text{H}_2\text{O})_3]$ and $[\text{Gd}(\text{dpaa})_2(\text{H}_2\text{O})]^{3-}$, which are typical values for complexes of these sizes.^[23,59] Finally, the determination of the OS relaxivities is model independent. In particular, it is applicable to Gd–L complexes that have anisotropic shapes and/or off-centre positions of the Gd^{III} centre, and for which the standard Ayant–Belorizky–Hwang–Freed (ABHF) OS relaxation model,^[60,61] which involves two spins located at the centres of diffusing hard spheres, becomes questionable.

Interactions of $[\text{Gd}(\text{dpaa})(\text{D}_2\text{O})_3]$ with oxyanions: The quite high relaxivity observed for these complexes prompted us to investigate the effect of physiological anions on the relaxivity of $[\text{Gd}(\text{dpaa})(\text{D}_2\text{O})_3]$ to evaluate the behaviour in vivo and the potential for application.

Physiological anions can displace the ligand, thus resulting in insoluble adducts and toxicity,^[62] or they can replace the water molecules coordinated to the gadolinium centre to form ternary adducts and therefore decrease the contrast efficiency of the complex. It has been observed previously that the presence of phosphate species dramatically decreases the relaxivity of gadolinium complexes of hexadentate texaphyrins from 17 to $5 \text{ s}^{-1} \text{ mm}^{-1}$.^[16] In the $\text{do}3\text{a}^{3-}$ derivatives, both IS water molecules are replaced by bidentate

anions, such as malonate and lactate species, whereas only one water molecule is displaced by a carbonate or phosphate moiety.^[14,63,64]

The introduction of carboxylate groups on the do3a^{3-} ligand prevents anion and protein binding,^[17] whereas the relaxivity of the bis(aquo) gadolinium complexes of a tripodal hydroxypyridone-based ligand is decreased significantly by only two physiological anions, phosphate and oxalate, the other anions, including citrate, have negligible effects.^[20] It is evident from these data that anion binding is very sensitive to the charge of the complex and minor variations in the ligand structure and geometry.^[11] However, there is still a lack of clear understanding of the dependency of anion binding from the structural properties.

The three metal-bound water molecules in the $[\text{Gd}(\text{dpaa})(\text{D}_2\text{O})_3]$ complex can be partially or totally replaced by oxyanions, which coordinate to the Gd^{III} centre to form ternary complexes with $[\text{Gd}(\text{dpaa})(\text{H}_2\text{O})_3]$. As the IS contribution to the relaxivity is proportional to the mean number \bar{q} of metal-bound water molecules, the drop in the measured relaxivity, when adding an oxyanion, is directly proportional to the number of replaced water molecules and can be used to study the coordination of the metal centre by the oxyanion. The interaction of several physiological anions with $[\text{Gd}(\text{dpaa})(\text{D}_2\text{O})_3]$ was studied by relaxometric analysis to investigate the influence of the ligand geometry on the formation of ternary adducts. The values of relaxivity measured for the neutral complex $[\text{Gd}(\text{dpaa})(\text{D}_2\text{O})_3]$ in presence of a 200-fold excess of six different physiological anions are reported in Table 7.

Table 7. Longitudinal relaxivity r_1 and relaxivity difference $\Delta r_1 = r_{1,\text{without anion}} - r_{1,\text{with anion}}$ for $[\text{Gd}(\text{dpaa})(\text{H}_2\text{O})_3]$ in the presence of 200 equivalents of various physiological anions.^[a]

Anion	r_1 [$\text{s}^{-1} \text{mM}^{-1}$]	Δr_1 [$\text{s}^{-1} \text{mM}^{-1}$]
–	11.64	–
acetate	9.19	–2.45
lactate	8.24	–3.4
biphosphate	7.75	–3.89
bicarbonate	6.30	–5.34
oxalate	6.15	–5.49
citrate	2.87	–8.77

[a] Experimental conditions: 200 MHz, D_2O , $\text{pD} \approx 7.4$, $[\text{Gd}(\text{dpaa})] \approx 3 \text{ mM}$, $[\text{physiological anions}] \approx 600 \text{ mM}$.

The relaxivity decreases significantly for all anions, thus indicating that anion binding occurs. The observed values can be roughly interpreted as follows, with the help of the relaxivity analysis of the free $[\text{Gd}(\text{dpaa})(\text{D}_2\text{O})_3]$ complex presented previously. The experimental OS relaxivity is $r_{1,w}^{\text{OS}} = 2.53 \text{ s}^{-1} \text{ mM}^{-1}$ for the HOD proton, and the IS contribution per coordinated water molecule is $r_{1,w}^{\text{IS}}/3 = 3.13 \text{ s}^{-1} \text{ mM}^{-1}$. As the oxyanions that replace the metal-bound water molecules are small species with respect to the $\text{Gd}(\text{dpaa})$ complex, both the OS and IS dynamics of the ternary complexes should be similar to those of the free complex. Then, the predicted relaxivity for ternary complexes

with $q^{(\text{b})}$ ((b)=bound) metal-bound water molecules should be approximately $r_1^{\text{adduct}}(q^{(\text{b})}) = 2.53 + q^{(\text{b})} \times 3.13 \text{ s}^{-1} \text{ mM}^{-1}$, that is, 2.5, 5.7 and $8.8 \text{ s}^{-1} \text{ mM}^{-1}$ for $q^{(\text{b})} = 0, 1$ and 2, respectively. This suggests that all the three metal-bound water molecules of $[\text{Gd}(\text{dpaa})(\text{D}_2\text{O})_3]$ are replaced by citrate, two of them by bicarbonate and oxalate, and only one by acetate, biphosphate and lactate in the presence of a 200-fold excess of anions with respect to the free complex. Even under these conditions that are favourable to the formation of adducts with oxyanions, the mean relaxivity remains higher than those of most of the currently used commercial contrast agents except for the citrate. However, the measured relaxivity $\bar{r}_1 = 7.9 \text{ s}^{-1} \text{ mM}^{-1}$ in a solution containing equimolar concentrations of $[\text{Gd}(\text{dpaa})(\text{H}_2\text{O})_3]$ and citrate is still high.

The formation constant K_{adduct} of a ternary adduct with an oxyanion can be derived from the variation of the mean relaxivity of the HOD proton versus the oxyanion concentration by using Equation (33) (see the Theory Section). The relaxivity \bar{r}_1 was measured at different concentrations of the citrate and bicarbonate anions (see the Supporting Information), which are present in the blood plasma at concentrations^[65] (0.06–0.16 and 22–28 mM for citrate and bicarbonate, respectively) comparable to that of a contrast agent distributed in the extra-cellular fluid after administration of a standard dose of 0.1 mmol kg^{-1} body weight.^[66] The fitting of the relaxivity data reported in the Supporting Information provides satisfactory adduct relaxivities and formation constants ($r_1^{(\text{b})} = 2.7 \text{ s}^{-1} \text{ mM}^{-1}$, $\log K_{\text{adduct}} \approx 3.7$ for citrate at $\text{pD} = 7.6$ and $r_1^{(\text{b})} = 5.35 \text{ s}^{-1} \text{ mM}^{-1}$, $\log K_{\text{adduct}} \approx 1.8$ for bicarbonate at $\text{pD} = 7.4$).

Thus, the high relaxivity of the gadolinium complex of this tripodal tris(picolate) ligand is only partially decreased by most of the physiological anions in spite of the neutral charge of the complex. Analogous ligands that lead to negatively charged complexes should lead to improved stability and lower affinity for physiological anions. Studies in this direction are in progress. A comparison with the results reported for the interaction with physiological anions for the tripodal hopo derivatives tren-bis-hopo-tam ligands^[20,67] reveals an increased interaction with some physiological anions. This behaviour could be explained by the higher number of IS water molecules that result in higher accessibility of the coordination sites for anion binding or by an overall different geometry in solution. The investigation of anion binding by bis(aquo) or tris(aquo) gadolinium complexes with picolate ligands with different architectures should give more insight into the relation between ligand geometry and the displacement by physiological anions of water molecules bound to gadolinium.

Interactions of $[\text{Gd}(\text{dpaa})(\text{H}_2\text{O})_3]$ with bovine serum albumin (BSA): For most of the clinical imaging fields, which range from 0.5 to 1.5 T, it is well known that slowing down the Brownian rotation of a Gd–L complex by covalent or noncovalent interactions with a macromolecular solute is an efficient way to increase the IS contribution to the relaxivity provided that the residence time τ_M of a metal-bound water

molecule is on the order of 0.1 μs or shorter.^[7,66] In the case of blood-pool contrast agents, this process can be achieved by noncovalent binding of mono(aquo)–gadolinium complexes to the abundant plasma protein, serum albumin.^[68–72] Unfortunately, the side-chain carboxylate groups of the proteins, such as serum albumin, may cause a partial or total displacement of the coordinated water molecules of the bis- and tris(aquo) complexes, thus suppressing the relaxivity enhancement benefit as a result of the high number of these water molecules in the free complex.^[9,10,66,73] The presence of hydrophobic pyridine groups on the dpaa ligand incited us to explore whether $[\text{Gd}(\text{dpaa})(\text{H}_2\text{O})_3]$ binds to a plasma albumin, such as BSA, of molecular weight $M_{\text{BSA}} = 66400$ Da, and if the final adduct retains the IS water molecules of the free complex upon binding. To investigate the interaction of the protein with the $[\text{Gd}(\text{dpaa})(\text{H}_2\text{O})_3]$ complex and, in particular, its effect on the coordination environment of the gadolinium centre, we performed luminescence studies in the presence of BSA^[74] and measured the water-proton longitudinal and transverse relaxivities in solutions of the gadolinium complex containing increasing BSA concentrations at 298 K and a proton resonance frequency of 60 MHz that correspond approximately to the imaging field of 1.5 T.

The observed luminescence lifetimes of the $\text{Tb}(\text{D}_4)$ ($\tau_{\text{H}_2\text{O}} = 1.04(3)$ ms and $\tau_{\text{D}_2\text{O}} = 1.63(2)$ ms) levels for a solution of $[\text{Tb}(\text{dpaa})]$ (4 mM) with BSA (12% w/v) are in agreement with the presence of a mean number $\bar{q} = 1.54 \pm 0.2$ of metal-bound water molecules. The decrease in the observed number of metal-bound water molecules from $q^{(f)} = 3.1 \pm 0.2$ in the absence of BSA to $\bar{q} = 1.54 \pm 0.2$ in presence of this protein requires the existence of BSA binding sites, for which the number of water molecules coordinated to the Gd^{III} centre is decreased to 1 or 0 [according to Eq. (32) of the Theory section]. Assuming that all the n_{BSA} BSA binding sites of $[\text{Gd}(\text{dpaa})(\text{H}_2\text{O})_3]$ are equivalent, the number of water molecules coordinated to the Gd^{III} centre, when the complex is bound to BSA, has to be $q^{(b)} = q_{\text{BSA}} = 1$ or 0. First, consider the situation $q_{\text{BSA}} = 1$, which would imply the coordination of the protein side-chain carboxylate groups to the gadolinium centre in a bi- or monodentate fashion.^[17] The number n_{BSA} of binding sites and the association constant k per site are unknown and will now be inferred from r_1 and r_2 measurements in solutions of $[\text{Gd}(\text{dpaa})(\text{H}_2\text{O})_3]$ of various BSA concentrations. The compositions of the studied solutions and relaxivity values are reported in the Supporting Information. The theoretical expressions given by Equation (33) of the mean relaxivities \bar{r}_1 and \bar{r}_2 , derived in the Theory section, with the equilibrium concentration $[\text{C}]_{\text{eq}}$ of the free complex given by Equation (31), were fitted to their experimental counterparts. The theoretical mean relaxivities \bar{r}_1 and \bar{r}_2 are displayed in Figure 6 for selected values of $n_{\text{BSA}} = 2, 4, 10$ and 20 and associated formation constants per site $k = 1300, 360, 110$ and 50 L mol^{-1} , which are compatible with the experimental value of \bar{q} . The agreement with experiment improves significantly with an increasing number of binding sites and reaches a plateau for $n_{\text{BSA}} \geq 10$,

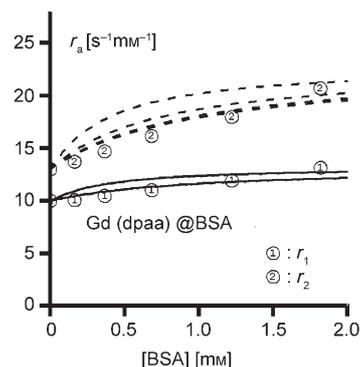


Figure 6. Longitudinal and transverse relaxivities r_1 and r_2 of the H_2O protons at 60 MHz as a result of the complex $[\text{Gd}(\text{dpaa})(\text{H}_2\text{O})_3]$ as a function of the concentration of BSA at 298 K. The mean relaxivities \bar{r}_1 and \bar{r}_2 given by Equation (33) are represented by continuous (top: $n = 2$ and 4, bottom: $n = 10$ and 20) and dashed curves (from the top: $n = 2$ and 4; overlapping curves: $n = 10$ and 20) respectively. These values tend to the experimental values as the number of BSA binding sites n increases.

in which case the association constant k is on the order of 100 or smaller, in accordance with the formation constants of the $\text{Gd}(\text{dpaa})$ adducts with mono- and bidentate oxyanions. It should be emphasised that the limiting relaxivities $r_1^{(b)} = r_{1,\text{BSA}} = 13.2$ and $r_2^{(b)} = r_{2,\text{BSA}} = 22.8 \text{ s}^{-1} \text{ mm}^{-1}$ at 60 MHz of the bound $\text{Gd}(\text{dpaa})$ complex used in the fitting procedure were not adjusted. These values were simply taken to be the sums of the OS values for the free $[\text{Gd}(\text{dpaa})(\text{H}_2\text{O})_3]$ complex in H_2O derived from experiment as shown previously and of the IS values obtained from the SBM Equations (18)–(20) with $\tau_{\text{R}} = 9.3$ ns and $\tau_{\text{M}} = 0.8 \mu\text{s}$. As suggested by Bertini et al.,^[75] the rotational correlation time was obtained from the standard equation $\tau_{\text{R}} = \eta M_{\text{BSA}} / (dRT)$, where η is the H_2O viscosity and $d = 1 \text{ g cm}^{-3}$ the density of BSA. Its value is similar to those proposed by Caravan et al.^[70] The coordination lifetime τ_{M} was the only fitted parameter in addition to the number of binding sites. This lifetime has a reasonable value, longer than that of $[\text{Gd}(\text{dpaa})(\text{H}_2\text{O})_3]$ because of the binding site of BSA and is similar to that of $[\text{Gd}(\text{dpaa})_2(\text{H}_2\text{O})]^{3-}$. To be complete it should be pointed out that the effects of the electronic spin longitudinal relaxation of the Gd^{III} ion on the $r_{1,\text{BSA}}$ and $r_{2,\text{BSA}}$ values may not be completely negligible at 60 MHz, even though it is due to the sole fluctuations of the so-called transient zero-field splitting (ZFS) Hamiltonian.^[76]

Indeed, assuming that the transient ZFS Hamiltonian of $[\text{Gd}(\text{dpaa})_2(\text{H}_2\text{O})]^{3-}$ has the typical parameters of the $[\text{Gd}(\text{dota})(\text{H}_2\text{O})]^-$ complex,^[59] the longitudinal electronic relaxation time T_{1e} is only slightly longer than the rotational correlation time of BSA, and thus will modify the relaxivities $r_{1,\text{BSA}}$ and $r_{2,\text{BSA}}$ of the bound $\text{Gd}(\text{dpaa})$ complex. We checked that such a modification does not significantly alter the conclusion of the present BSA study. A more precise theory would require not only a reliable characterisation of the transient ZFS Hamiltonian, but also a description of the OS relaxivities, thus accounting for the location of the bound complexes at the BSA surface. This investigation is

far beyond the purpose of this study. Also note that because of the mass-action laws the concentration of bound Gd(dpa) is larger for a number of $2n_{\text{BSA}}$ binding sites of association constant $k/2$ than for n_{BSA} binding sites of the association constant k . To sum up, to interpret the luminescence and relaxivity data in the case of $q_{\text{BSA}}=1$, it was possible to build a simple binding model of Gd(dpa) and BSA depending on structural and dynamic parameters, which were derived from simple physical considerations or obtained by elementary mathematical treatment without multiparameter fitting.

Turn to the second situation of $q_{\text{BSA}}=0$, which is compatible with the experimental average number of metal-bound water molecules $\bar{q}=1.54\pm 0.2$. A purely OS relaxation mechanism leads to theoretical relaxivities that are much smaller than the values measured in the presence of BSA. Therefore, a second-sphere (2S) relaxation mechanism^[7,66,77] has to be invoked. The coordination lifetime τ_{M} to be fitted in the case of $q_{\text{BSA}}=1$ is replaced by its counterpart τ'_{M} for 2S water molecules, the number q' and the distances r'_{H} to the Gd^{III} centre, which are unknown and have also to be fitted. The longitudinal and transverse 2S relaxivities $r_{1,\text{BSA}}^{2\text{S}}$ and $r_{2,\text{BSA}}^{2\text{S}}$ are given by^[7] Equation (12):

$$r_{\alpha}^{2\text{S}} = \frac{Pq'}{T'_{\alpha\text{M}} + \tau'_{\text{M}}} \quad (12)$$

where the intramolecular relaxation rates $1/T'_{1\text{M}}$ and $1/T'_{2\text{M}}$ are expressed in terms of the 2S spectral density $j_{2\text{c}}^{2\text{S}}(\omega)$ as Equations (13a and b)

$$1/T'_{1\text{M}} = A j_{2\text{c}}^{2\text{S}}(\omega) \quad (13a)$$

$$1/T'_{2\text{M}} = A \left[\frac{2}{3} j_{2\text{c}}^{2\text{S}}(0) + \frac{1}{2} j_{2\text{c}}^{2\text{S}}(\omega_{\text{L}}) \right] \quad (13b)$$

At high field, the spectral density $j_{2\text{c}}^{2\text{S}}(\omega)$ is of the form given in Equation (14):

$$j_{2\text{c}}^{2\text{S}}(\tau = i\omega) = \frac{1}{4\pi r_{\text{H}}^6} \frac{\tau'_{\text{c}}}{1 + \omega^2 \tau'_{\text{c}}{}^2} \quad \text{with} \quad \frac{1}{\tau'_{\text{c}}} \equiv \frac{1}{\tau_{\text{R}}} + \frac{1}{\tau'_{\text{M}}} \quad (14)$$

Equations (12)–(14) are formally identical to Equations (18)–(20), which describe the IS relaxivities, but the correlation time τ'_{c} of the 2S relaxation mechanism is much shorter than the correlation time τ_{R} of the IS relaxation mechanism. Indeed, the residence lifetime τ'_{M} is expected to be^[78] less than 100 ps so that it is much shorter than τ_{R} and $\tau'_{\text{c}} \cong \tau'_{\text{M}} \ll \tau_{\text{R}}$. The consequence for the values of the 2S relaxivities $r_{1,\text{BSA}}^{2\text{S}}$ and $r_{2,\text{BSA}}^{2\text{S}}$ of the bound complex is that $r_{2,\text{BSA}}^{2\text{S}}$ exceeds $r_{1,\text{BSA}}^{2\text{S}}$ by less than 15%. This difference is transferred to the total relaxivities $r_{1,\text{BSA}}$ and $r_{2,\text{BSA}}$ of the bound complex so that $r_{2,\text{BSA}}$ exceeds $r_{1,\text{BSA}}$ only by a similarly small percentage. This theoretical property is incompatible with the experimental relaxivity values as, for example, the r_2^{exp} value is about 60% larger than the r_1^{exp} value at the highest BSA concentration! Briefly, the observed variation in relaxivities

with BSA concentration cannot be explained by the standard model of 2S relaxivity with a reasonable residence lifetime τ'_{M} of the 2S water molecules.

According to these results the $[\text{Gd}(\text{dpa})(\text{H}_2\text{O})_3]$ complex interacts with several equivalent sites of serum albumin with a binding constant similar to that found for the interaction of the complex with bidentate anions. This behaviour leads to the displacement of only two coordinated water molecules and to an overall increase of the final relaxivity of the gadolinium complex in the presence of serum albumin.

Finally it is worth discussing the limits of the previous analysis of the relaxivity observed for $[\text{Gd}(\text{dpa})(\text{H}_2\text{O})_3]$ in the presence of BSA. From the above interpretation, it is clear that the interaction of this complex with BSA is quite complicated so that the various measured relaxometric properties are not sufficient, even for a preliminary investigation. For example, it would have been tempting to interpret the measured relaxivity values in terms of a high relaxivity of the complex bound to a single site of albumin with a low binding constant. However, this interpretation is not compatible with the measured number of coordinated water molecules by luminescence lifetime studies, and the interpretation of both experimental data requires the introduction of several binding sites with a higher affinity constant. The previous analysis also indicates that the combination of the relaxometric and spectrofluorimetric properties is still insufficient to discriminate between 4–20 binding sites. For that purpose, the isolation and characterisation of the albumin-bound species is needed.^[70] Finally, a more precise description beyond the rough model presented herein would require measurement of the water-exchange rate. Studies in that direction are in progress.

Conclusion

The new hexadentate picolinate ligand dpa^{3-} forms a tris(aquo) gadolinium complex with high water solubility, reasonable stability at physiological pH and fairly high relaxivity at high field. At a pH value higher than 8, the formation of soluble hydroxo complexes is accompanied by a decrease in the relaxivity. The hydroxo and the aquo complexes self-assemble in the solid state through the formation of carboxylate bridges between different gadolinium centres and between gadolinium centres and sodium cations to build a rare 1D coordination polymer of square-shaped tetrameric units. A new versatile method to unravel the geometric and dynamic molecular factors that explain the high-field relaxivities has been developed. This method uses a small, uncharged non-coordinating probe solute, the OS relaxivity of which mimics that of the water proton; furthermore, only routine NMR spectrometric and simple mathematical analysis is required. In particular, numerical multiparameter fitting sometimes based on physically questionable assumptions is not needed.

The tris(aquo) complex interacts strongly with physiological anions, and the formation of ternary complexes is accom-

panied by a significant decrease in the relaxivity value. Nevertheless, the relaxivity of the ternary complex remains high in most cases, and low relaxivity values are only observed in the presence of a 200-fold excess of citrate. The selective interaction with biological dianions, which leads to significant variation of the relaxivity, is of particular interest because of the potential application in monitoring the concentration of metabolites in clinical examinations. The affinity of this gadolinium complex for biological anions and the observed changes in relaxivity upon anion binding are strongly dependent on the anion structure and differ significantly from the observations of other tris- and bis(aquo) complexes previously reported. The interaction of the tris(aquo) complex with the protein bovine serum albumin displaces only two of the three coordinated water molecules so that the exchangeable remaining water molecule can still yield a small relaxivity enhancement as the protein concentration increases. All these results show the importance of structural variation on the formation of ternary complexes and the need for more systematic studies. The objective is to control ternary complex formation by ligand design either to prevent it or to favour selective interaction.

Experimental Section

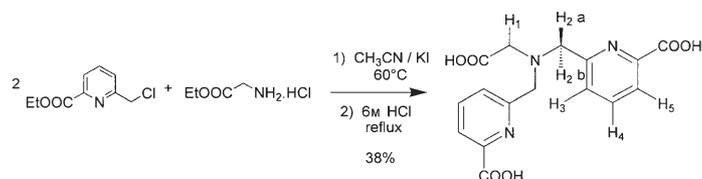
General: ^1H NMR spectra were recorded at 400 MHz on a Varian Unity 400 spectrometer and at 200 MHz on an Avance DMX 200 Bruker spectrometer. Chemical shifts are reported in ppm with the solvent as the internal reference. Mass spectra were obtained with a Finnigan LCQ-ion trap equipped with an electrospray source. Elemental analyses were performed by the Service Central d'Analyse (Vernaison, France).

Solvents and starting materials were obtained from Aldrich, Fluka, Acros and Alfa and used without further purification. Anhydrous acetonitrile was purchased from Aldrich and used without further purification. 6-Chloromethylpyridine-2-carboxylic acid ethyl ester was obtained from the commercially available 2,6-dipicolinic acid according to a published procedure.^[79] BSA fraction V (99%) was purchased from Aldrich.

Synthesis of the ligand H_3dpaa

N,N' -Bis[(6-carbomethoxypyridin-2-yl)methyl]glycyl ethyl ester: 6-Chloromethylpyridine-2-carboxylic acid ethyl ester (0.582 g, 2.93 mmol), K_2CO_3 (0.618 g, 4.37 mmol) and KI (0.488 g, 2.91 mmol) were successively added to a solution of glycine ethyl ester hydrochloride (0.169 g, 1.21 mmol) in anhydrous acetonitrile (20 mL). The reaction mixture was stirred at room temperature for 1 h and then heated at 60°C for 2 days. After filtration and evaporation of the solvent, the resulting crude product was dissolved into CHCl_3 (100 mL) and washed with a semi-saturated solution of NaHCO_3 . After extraction of the aqueous layer with CHCl_3 (2×50 mL), the organic layer was dried over Na_2SO_4 , filtered and evaporated to dryness. Further purification of the crude product by column chromatography on alumina activity III (75 mL; $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOH}$ 100:1→95:5) yielded the desired product as a yellow solid (0.301 g, 58%). ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3 , 298 K): δ = 1.26 (t, J = 7.2 Hz, 3H, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$), 1.43 (t, J = 7.2 Hz, 6H, $\text{pyCOOCH}_2\text{CH}_3$), 3.47 (s, 2H, CH_2COOEt), 4.08 (s, 4H, CH_2py), 4.16 (q, J = 7.2 Hz, 2H, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$), 4.46 (q, 4H, J = 7.2 Hz, $\text{pyCOOCH}_2\text{CH}_3$), 7.83 (m, 4H, CH), 8.01 (t, J = 4.8 Hz, 2H, CH) ppm; ES-MS: m/z (%): 452.3 (100) $[M+\text{Na}]^+$, 430.3 (15) $[M+\text{H}]^+$.

N,N' -Bis[(6-carboxypyridin-2-yl)methyl]glycine (H_3dpaa): The synthetic strategy used for the formation of H_3dpaa is shown in Scheme 2. N,N' -Bis[(6-carbomethoxypyridin-2-yl)methyl]glycyl ethyl ester (0.270 g, 0.63 mmol) was heated to reflux overnight in a 6M HCl aqueous solution (40 mL). After evaporation of the solvent (≈ 3 mL) and cooling the re-



Scheme 2.

sulting solution at 4°C overnight, a white solid was formed by precipitation and collected by filtration, washed with Et_2O and dried under vacuum to yield $\text{H}_3\text{dpaa} \cdot 1\text{HCl} \cdot 0.1\text{H}_2\text{O}$ (0.142 g, 65%). ^1H NMR (400 MHz, D_2O , 298 K, pD = 4.7): δ = 3.94 (s, 2H, H_1), 4.60 (s, 4H, H_2), 7.43 (d, J = 7.6 Hz, 2H, H_3), 7.76 (d, J = 7.6 Hz, 2H, H_5), 7.76 (t, J = 7.6 Hz, 2H, H_4) ppm; ES-MS: m/z (%): 346.1 (100) $[M+\text{H}]^+$; elemental analysis (%) calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_6 \cdot 1\text{HCl} \cdot 0.1\text{H}_2\text{O}$: C 50.10, H 4.26, N 10.96; found: C 50.15, H 4.31, N 10.91; the salt content was confirmed by potentiometric titration.

Synthesis of the lanthanides complexes

$[\text{Gd}(\text{dpaa})(\text{H}_2\text{O})_3]$ (1**):** A solution of $\text{GdCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0.17 mmol) in Milli-Q (mQ) ultrapure water (1 mL) was added to a solution of H_3dpaa (0.17 mmol) in water (2 mL). The pH value of the resulting mixture was adjusted to $\text{pH} \approx 6$ by adding an aqueous solution of NaOH (1M). After evaporation of water, the resulting solid was suspended in ethanol (20 mL). The resulting suspension was stored at 4°C overnight, and NaCl was eliminated by filtration. This operation was repeated several times until most of the salts had been eliminated. The resulting solution was taken to dryness and dissolved in mQ water (0.7 mL). Slow diffusion of acetonitrile (≈ 5 mL) at 4°C yielded the $[\text{Gd}(\text{dpaa})(\text{H}_2\text{O})_3]$ complex as a white microcrystalline solid (65%). ES-MS: m/z (%): 771.9 (30) $[[[\text{Gd}(\text{dpaa})_3] + 2\text{Na}]^{2+}$, 1022.0 (100) $[[[\text{Gd}(\text{dpaa})_4] + 2\text{Na}]^{2+}$, 1271.7 (30) $[[[\text{Gd}(\text{dpaa})_5] + 2\text{Na}]^{2+}$, 1520.9 (30) $[[[\text{Gd}(\text{dpaa})_3] + \text{Na}]^+$; elemental analysis (%) calcd for $[\text{Gd}(\text{dpaa})] \cdot 0.8\text{NaCl} \cdot 5.8\text{H}_2\text{O} \cdot 0.2\text{EtOH}$: C 29.85, H 3.79, N 6.37, Gd 23.83; found: C 29.96, H 3.79, N 6.39, Gd 23.53.

$[[[\text{Gd}(\text{dpaa})(\text{H}_2\text{O})_2][\text{Gd}(\text{dpaa})(\text{H}_2\text{O})(\text{OH})]\text{Na}(\text{H}_2\text{O})_2]_2 \cdot 2\text{Na}(\text{OH})(\text{H}_2\text{O})_3 \cdot \text{CH}_3\text{OH} \cdot 6\text{H}_2\text{O}]^\infty$ (**3**):

Obtained as crystals by slow evaporation of an $\approx 10^{-2}$ M solution of **1** after adjustment of the pH value to 8.

$[\text{Lu}(\text{dpaa})(\text{H}_2\text{O})_2]$ (2**):** A solution of $\text{LuCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0.048 mmol) in mQ water (1 mL) was added to a solution of H_3dpaa (0.048 mmol) in water (2 mL). The pH value of the resulting mixture was adjusted (pH 5.27) by adding an aqueous solution of KOH (1M). The solution was evaporated to approximately 1 mL and stored at 4°C. After a few days, white crystals formed. KCl was eliminated by washing with small aliquots of cold mQ water. The solid was dried to yield the $[\text{Lu}(\text{dpaa})(\text{H}_2\text{O})_2]$ complex as a white microcrystalline solid (82%). Crystals suitable for X-ray diffraction were obtained by slow evaporation of a concentrated solution of the complex in water. Elemental analysis (%) calcd for $[\text{Lu}(\text{dpaa})] \cdot 0.7\text{KCl} \cdot 1.0\text{H}_2\text{O} \cdot 0.8\text{EtOH}$: C 33.87, H 3.04, N 6.73; found: C 33.99, H 3.02, N 6.59.

The samples of the $\text{Ln}(\text{dpaa})$ ($\text{Ln} = \text{Lu}, \text{La}, \text{Eu}$) complexes for the NMR measurements were prepared by dissolving equimolar amounts of the ligand and the hydrate $[\text{Ln}(\text{OTf})_3]$ in D_2O followed by adjustment of the pD value with solutions of NaOD in D_2O . Concentrations in the range of 2×10^{-2} – 5×10^{-2} M were used. The pH values given are corrected for deuterium isotope effects.^[80]

$[\text{La}(\text{dpaa})(\text{H}_2\text{O})_2]$: ^1H NMR (D_2O , 400 MHz, 298 K, pD 8.1): δ = 3.62 (s, 2H, H_1), 4.13 (d, J = 16 Hz, 2H, $\text{H}_2\text{a}/\text{H}_2\text{b}$), 4.26 (d, J = 16 Hz, 2H, $\text{H}_2\text{a}/\text{H}_2\text{b}$), 7.61 (d, J = 8 Hz, 2H, H_3), 7.93 (d, J = 8 Hz, 2H, H_5), 8.03 ppm (t, J = 8 Hz, 2H, H_4).

$[\text{Lu}(\text{dpaa})(\text{H}_2\text{O})_2]$: ^1H NMR (D_2O , 400 MHz, 298 K, pD 6.7): δ = 3.85 (s, 2H, H_1), $\delta_{\text{A}} = 4.46$, $\delta_{\text{B}} = 4.52$ (dd, $J_{\text{AB}} = 15.4$ Hz, 4H, $\text{H}_2\text{a} + \text{H}_2\text{b}$), 7.83 (d, J = 7.6 Hz, 2H, H_3), 8.10 (d, J = 7.6 Hz, 2H, H_5), 8.25 ppm (d, J = 7.6 Hz, 2H, H_4).

[Eu(dpaa)(H₂O)₃]: ¹H NMR (D₂O, 400 MHz, 298 K, pD 7.9): δ = -2.78 (s, 2H, H1), 3.25 (s, 2H, H3/H5), 3.87 (s, 2H, H2a/H2b), 6.64 (s, 2H, H4), 7.50 (s, 2H, H3/H5), 10.76 ppm (s, 2H, H2a/H2b).

A 2D-COSY experiment performed at 298 K allowed the differentiation between the protons of the pyridine ring: cross peaks between H4/H2 and H4/H5 were observed.

Potentiometric titrations: Ligand-protonation and metal-ion stability constants with H₃dpaa were determined by potentiometric titrations. Solutions of Gd^{III} and Tb^{III} were prepared by dissolving the appropriate amounts of GdCl₃·6H₂O and TbCl₃·6H₂O (Aldrich) in water. The exact concentration of Ln³⁺ ions was determined by colourimetric titration in acetate buffer (pH 4.5) by using standardised H₂Na₂edta solutions (Aldrich) and xylenol orange as the indicators. Aliquots of 20-mL solutions of H₃dpaa (7.5·10⁻⁴ M) alone, acidified (pH ≈ 2.7) 1:1 Gd/ligand mixtures ([L] = 4.3·10⁻⁴ M), acidified (pH ≈ 2.7) 1:2 Gd/ligand mixtures ([L] = 4.4·10⁻⁴ M, [Gd] = 2.2·10⁻⁴ M), acidified (pH ≈ 2.5) 1:1 Tb/ligand mixtures ([L] = 3.6·10⁻⁴ M) and acidified (pH ≈ 2.7) 1:2 Tb/ligand mixtures ([L] = 1.8·10⁻⁴ M, [Tb] = 3.6·10⁻⁴ M) were titrated in a thermostated cell (25.0 ± 0.1 °C) under a stream of argon with a 0.1 M KOH solution added by means of a 5-mL piston burette (Metrohm). The ionic strength was fixed with KCl (μ = 0.1 M). Titrations were carried out with a Metrohm 751 GPD Titrimo potentiometer equipped with a combined pH glass electrode (Metrohm). Calibration of the electrode system was performed prior to each measurement. The electromotive force is given by $E = E^{\circ} + s \text{pH}$ and both E^o and s were determined by titrating a known amount of HCl with 0.1 M KOH at μ = 0.1 M (KCl) by using the acid range of the titration. The value used for the ion product of water is log K_w = 13.77.^[81] More than 58 data points were collected for each experiment.

The data were mathematically treated by the program HYPER-QUAD2000.^[82,83] All values and errors represent the average of at least three independent experiments.

X-ray crystallography: All the diffraction data were recorded on a Bruker SMART CCD area detector three-circle diffractometer (MoK_α radiation, graphite monochromator, λ = 0.71073 Å). To prevent evaporation of co-crystallised water molecules, the crystals were coated with light hydrocarbon oil and the data were collected at -50 °C. The cell parameters were obtained with intensities detected on three batches of 15 frames with a 10-s exposure time for **3** and with all data collection for **2**. The crystal-detector distance was 5 cm. For three settings of φ, 1271 narrow data frames for **3** and **2** were collected for 0.3° increments in ω with an exposure time for of 10 and 300 s for **3** and **2**, respectively. At the end of the data collection, the first 50 frames were recollected to establish that crystal decay had not taken place during the collection. Unique intensities with I > 10σ(I) detected on all frames using the Bruker Saint program^[84] were used to refine the values of the cell parameters. The substantial redundancy in the data allows empirical absorption corrections to be applied using multiple measurements of equivalent reflections with the SADABS Bruker program.^[84] Space groups were determined from systematic absences, and they were confirmed by the successful solution of the structure (Table 1). Complete information on crystal data and data collection parameters is given in the Supporting Information.

The structures were solved by direct methods using the SHELXTL 6.14 package^[85] and for all the atoms of all the structures, including hydrogen atoms from the ligand for **3**, were found by difference Fourier syntheses. All non-hydrogen atoms were anisotropically refined on F². Hydrogen atoms were refined isotropically. For **2**, hydrogen atoms were included in calculated positions. CCDC-631492 (**2**) and -631493 (**3**) contain the supplementary crystallographic data for this paper. These data can be obtained free of charge The Cambridge Crystallographic Data Centre via www.ccdc.cam.ac.uk/data_request/cif.

Spectroscopic measurements: Absorption spectra were recorded on Cary 50 Probe UV/visible spectrometer with Perkin-Elmer Luminescence Cells with a path length of 1 cm. Luminescence lifetime measurements were recorded on a Perkin-Elmer LS-50B spectrometer at 293 K (without external temperature regulation). The luminescence lifetime τ_L was measured by recording the decay at the maximum of the emission spectra. The signals were analysed as single-exponential decays. The instrument settings were: gate-time = 10 ms, integration time = 1 s, flash count = 5

and proper slit widths were used for no saturation of the signal by using a different delay time. Luminescence lifetimes are the average of three independent experiments. Solutions of [Tb(dpaa)], [Eu(dpaa)], [Tb(dpaa)₂] and [Eu(dpaa)₂] for luminescence lifetime determination were prepared in situ by mixing appropriate volumes of Ln^{III} in mQ water or in D₂O (concentration was determined by titration with EDTA in acetate buffer with xylenol orange indicator) and dpaa (in 0.1 M Tris buffer (pH 7.4) or in D₂O (pH ≈ 7)). Solutions of [Tb(dpaa)] (10⁻⁵ M) and [Eu(dpaa)] (10⁻⁴ M) with a 2% excess of dpaa were used. The luminescence lifetime of [Eu(dpaa)₂] was determined by using a 10% excess of dpaa ([Eu] ≈ 4 × 10⁻⁴ M, [dpaa] ≈ 8.8 × 10⁻⁴ M) and the luminescence lifetime of [Tb(dpaa)₂] was determined by using a 110% excess of dpaa ([Tb] ≈ 1.10⁻³ M, [dpaa] ≈ 4.3 × 10⁻³ M). As a result of the different quenching efficiencies of the O-H and O-D oscillators, the measurement of the Ln^{III} luminescence lifetimes τ in solutions of H₂O and D₂O allows an accurate estimation of the number of coordinated water molecules present in solution q by using the equation of Beeby and co-workers ($q = A_{Ln}(1/\tau_{H_2O} - 1/\tau_{D_2O} - \alpha_{Ln})$) with A_{Tb} = 5 ms, A_{Eu} = 1.2 ms, α_{Tb} = 0.06 ms⁻¹ and α_{Eu} = 0.25 ms⁻¹,^[44] (a corrected version of the empirical equation of Horrocks and Sudnick^[45] that accounts for closely diffusing OH oscillators). Luminescence excitation and emission spectra were recorded on the same instrument (delay = 0.05 ms, gate-time = 10 ms, cycle-time = 200 ms, flash count = 1 × 10⁻⁶ M) for solutions of [Tb(dpaa)], [Eu(dpaa)], [Tb(dpa)₃] and [Eu(dpa)₃] to obtain quantum yield measurements that were prepared in situ by mixing appropriate volumes of Ln^{III} in mQ water or in deuterated water (concentration was determined by titration with EDTA in acetate buffer with xylenol orange indicator) and dpaa (in 0.1 M tris buffer (pH 7.4) or in D₂O (pH 6.7–6.9 adjusted with NaOD)) or dpa (in 0.1 M tris buffer (pH 7.4)). The quantum yields Φ were calculated using the equation $\Phi_x/\Phi_r = A_r(\tilde{\nu}) \cdot n_x^2 \cdot D_x/A_x(\tilde{\nu}) \cdot n_r^2 \cdot D_r$, where x is the sample, r the reference, A the absorbance, $\tilde{\nu}$ the excitation wavenumber, n the refractive index and D the integrated emitted intensity. The tris(dipicolinate) complexes [Eu(dpa)₃]³⁻ (Φ = 13.5%, 7.5·10⁻⁵ M in Tris buffer 0.1 M) and [Tb(dpa)₃]³⁻ (Φ = 26.5.5%, 6.5·10⁻⁵ M in Tris buffer 0.1 M) were used as references for the determination of quantum yields of the Eu- and Tb-containing samples, respectively.^[86] The consistency of the data was checked by measuring the quantum yield of the tris(dipicolinate) against rhodamine 101 (Φ_{abs} = 100% in ethanol)^[87] and cresyl violet (Φ_{abs} = 54% in methanol).^[87]

Solutions of [Tb(dpaa)] (4 mM) in the presence of BSA (12% w/v; C_{Tb(dpaa)}} = 3.92 mM, C_{BSA}} = 1.8074 mM, pH 7.0) for lifetime determination were prepared in situ by mixing appropriate volumes of solutions of [Tb(dpaa)] (in water or D₂O at pH ≈ 7, adjusted with NaOH or NaOD) with BSA. Luminescence emission spectra were recorded as mentioned before by direct excitation of the metal (λ_{ex} = 368 nm) and indirect excitation through the ligand (λ_{ex} = 273 nm).

Relaxivity measurements: The samples were prepared in situ by mixing the appropriate amounts of ligand and GdCl₃·6H₂O (99.99%; Aldrich) in water (mQ or D₂O) followed by adjustment of the pH value to approximately 7 with NaOH solution. The exact concentration of the Gd^{III} ions was determined by colourimetric titration in acetate buffer (pH 4.5) by using a standardised H₂Na₂(edta) solution (Aldrich) and xylenol orange as the indicator. The absence of free gadolinium was checked by the xylenol orange test.^[88] The 1/T₁ measurements were performed on a Bruker Avance 200 spectrometer (200 MHz).

Stock solutions (≈ 2 M) of each anion (sodium hydrogen phosphate, potassium bicarbonate, sodium lactate, potassium oxalate, sodium acetate and citric acid) were prepared by dissolving a precisely preweighed mass of the respective acid or salt in D₂O and neutralising it to pD ≈ 7.4 with KOD or DCl solutions. The relaxivity that results from the [Gd(dpaa)(D₂O)₃] complex in the presence of anions was measured in solutions prepared by mixing appropriate volumes of the [Gd(dpaa)(D₂O)₃] and the anion stock solutions. The relaxivity at 200 MHz was compared to that of pure D₂O at the same pD value. For determination of the anion binding constant, the [Gd(dpaa)(D₂O)₃]/bicarbonate solution was titrated with incremental addition of the pure [Gd(dpaa)(D₂O)₃] complex at the identical pH value (C_{Gd} = 0.51 mM), and the relaxivity at 200 MHz was measured after each addition.

For the determination of the BSA binding constant, six solutions of [Gd(dpaa)(H₂O)₃] ($C_{\text{Gd}} = 0.205 \text{ mM}$, $C_{\text{dpaa}} = 0.227 \text{ mM}$) in pure H₂O at pH 7.0 (after adjustment with a NaOH solution) were prepared with various BSA concentrations (0–1.82 mM). The T_1 and T_2 measurements were performed at 60 MHz and 298 K in a Drusch electromagnet operated with the help of an Apollo tecmag console.

Theory

High-field relaxometry: This section presents a theoretical framework for evaluating the geometric and dynamic molecular factors that explain the water-proton high-field relaxivity with the minimal experimental work. It will be shown that such a characterisation can be done on a routine high-resolution spectrometer available to any chemistry laboratory interested in the synthesis of contrast agents. An important simplification that occurs in the interpretation of the measured relaxivities is that they are independent of the relaxation of the Gd^{III} electronic spin, the accurate description of which requires particular caution.^[76] The longitudinal relaxation rate $R_1 \equiv 1/T_1$, transverse relaxation rate $R_2 \equiv 1/T_2$ and longitudinal relaxation rate in the rotating frame $R_{1,\rho} \equiv 1/T_{1,\rho}$ of a nuclear spin I can be measured in an external magnetic field B_0 by standard sequences.^[89] The reference rates in the diamagnetic solution corresponding to the absence of Gd–L complexes are denoted by $R_{\alpha 0} \equiv 1/T_{\alpha 0}$ ($\alpha = 1, 2, 1\rho$). Because of the large magnetic moment of the Gd^{III} centre, as a result of its electronic spin $S = 7/2$, the observed relaxation rates R_α increase markedly with the concentration [GdL] (mM) of the Gd–L complexes added to the solution. The relaxivities r_α (s⁻¹ mM⁻¹) are defined as the paramagnetic relaxation enhancements (PREs) $R_{\text{ap}} \equiv R_\alpha - R_{\alpha 0}$ per mM of added Gd–L complex [Eq. (15)]:

$$r_\alpha \equiv R_{\text{ap}} / [\text{GdL}] \quad (15)$$

For the majority of polyaminocarboxylate complexes, the water molecules do not bind to the ligand and the high-field relaxivities of the water protons are conveniently ascribed to the populations of water molecules in the IS and OS hydration shells^[76,77] of the Gd^{III} centre. More precisely, within the standard model of relaxivity, the IS contribution r_α^{IS} to the relaxivity r_α depends on 1) the number of water molecules q coordinated to the Gd^{III} centre, 2) the Gd–proton distance r_{H} of coordinated water, 3) the rotational correlation time $\tau_{\text{R}} \equiv 1/(6D_{\text{S}}^{\text{R}})$ of the Gd–L complex of the rotational diffusion coefficient D_{S}^{R} and 4) the coordination lifetime τ_{M} of a water molecule. The OS contribution r_α^{OS} depends on 5) the distance of closest approach a_{GdH} between the Gd^{III} nucleus and the protons of the OS water molecules and 6) the relative diffusion coefficient D of Gd–L and water. It will be shown that measuring the relaxivities r_1 and r_2 , or equivalently $r_{1,\rho}$ at a single high-field B_0 both for the water and CH₃ methanol protons is sufficient to evaluate the contributions of the IS and OS processes provided that the self-diffusion coefficients of water and methanol are known. Furthermore, assume that the IS Gd–proton distance has the probable value^[55] $r_{\text{H}} = 3.1 \text{ \AA}$. Then, once the number q of coordinated water molecules has been derived, for example from luminescence lifetime studies,^[44,45] the remaining parameters τ_{R} , τ_{M} , a_{GdH} and D of the GdL/water and Gd–L/methanol pairs will be estimated from the measured r_1 and r_2 values of water and methanol. This analysis of the experimental data rests on the following high-field theory.

Let γ_I and γ_S be the gyromagnetic ratios of the spins I and S and $\omega_I \equiv 2\pi\nu_I \equiv |\gamma_I|B_0$ and $\omega_S \equiv 2\pi\nu_S \equiv |\gamma_S|B_0$ their angular Larmor frequencies. The dipolar coupling constant is defined in Equation (16):

$$A \equiv \frac{8\pi}{5} \gamma_I^2 \gamma_S^2 \hbar^2 S(S+1) \quad (16)$$

The relaxivity r_α ($\alpha = 1, 2, 1\rho$) is the sum of the IS and OS contributions [Eq. (17)]:

$$r_\alpha = r_\alpha^{\text{IS}} + r_\alpha^{\text{OS}} \quad (17)$$

In the case of the water protons, the IS relaxivity is given^[7,66,77] by Equations (18)–(20):

$$r_\alpha^{\text{IS}} = \frac{Pq}{T_{\alpha\text{M}} + \tau_{\text{M}}} \quad (18)$$

where $P \equiv 10^{-3} \text{ M}/55.5 \text{ M} = 1.8 \times 10^{-5}$ is the number of Gd–L complexes per water molecule and $T_{\alpha\text{M}}$ is the relaxation time of type α of the protons of a water molecule in the limiting situation in which it would be coordinated to the Gd^{III} centre for an infinite duration. In the case of the CH₃ protons of methanol, which does not coordinate to the Gd^{III} species, we have: $r_\alpha^{\text{IS}} = 0$. The intramolecular relaxation rates $1/T_{\alpha\text{M}}$ are given by Equation (19a and b):

$$1/T_{1\text{M}} = A j_{2c}^{\text{IS}}(i\omega_I) \quad (19a)$$

$$1/T_{2\text{M}} = 1/T_{1\rho\text{M}} = A \left[\frac{2}{3} j_{2c}^{\text{IS}}(0) + \frac{1}{2} j_{2c}^{\text{IS}}(i\omega_I) \right] \quad (19b)$$

where the IS spectral density $j_{2c}^{\text{IS}}(\sigma)$ of complex (c) arguments $\sigma = i\omega$ ($\omega = 0$ and ω_I) is defined by Equation (20):

$$j_{2c}^{\text{IS}}(\sigma = i\omega) = \frac{1}{4\pi r_{\text{H}}^6} \frac{\tau_{\text{R}}}{1 + \omega^2 \tau_{\text{R}}^2} \quad (20)$$

The following expressions of the OS relaxivities are valid for water and for any solute such as methanol that does not undergo long-range charge–charge interactions or binding with the Gd–L complex. The OS variation parameter λ_D is defined in Equation (21):

$$\lambda_D = \frac{8\pi}{45} \Gamma_I^2 \gamma_S^2 \hbar^2 S(S+1) 10^{-6} N_{\text{Avogadro}} \quad (21)$$

At high field, the OS relaxivities take the simple forms^[25,53] of Equation (22a and b):

$$r_1^{\text{OS}} = r_{\text{mix}}^{\text{OS}}(\infty) - (\lambda_D/D^{3/2}) \sqrt{\pi\nu_I} \quad (22a)$$

$$r_2^{\text{OS}} = r_{1\rho}^{\text{OS}} = \frac{7}{6} r_{\text{mix}}^{\text{OS}}(\infty) - \frac{1}{2} (\lambda_D/D^{3/2}) \sqrt{\pi\nu_I} \quad (22b)$$

where the mixed relaxivity $r_{\text{mix}}^{\text{OS}}(\infty)$ at infinite field $B_0 = \infty$ is derived in Equation (23) to within a good approximation from the experimental high-field relaxivities as

$$r_{\text{mix}}^{\text{OS}}(\infty) = r_{\text{mix}}^{\text{OS}} = \frac{3}{2} \left(r_2^{\text{OS}} - \frac{1}{2} r_1^{\text{OS}} \right) = \frac{3}{2} \left(r_{1\rho}^{\text{OS}} - \frac{1}{2} r_1^{\text{OS}} \right) \quad (23)$$

In Equation (22), the universal dependence in $\sqrt{\nu_I}$ of the relaxivities stems from the fact that the long-time long-range relative translational diffusion of the water or solute molecule with respect to Gd–L has a 3D character and is independent of the details of the relative translational and rotational dynamics of the two interacting species when they are near one another. The determination of the infinite field value $r_{\text{mix}}^{\text{OS}}(\infty)$ of $r_{\text{mix}}^{\text{OS}}$ from relaxivity measurements at a high, but finite field value B_0 , is possible because $r_{\text{mix}}^{\text{OS}}$ depends on the field, only through the longitudinal relaxation rate $R_{1e} = 1/T_{1e}$ of the Gd^{III} electronic spin, which has negligible effects on the relaxivities at high field. Furthermore, according to Equation (5) given in reference[53] and Equations (A17) and (A18) of the related Supporting Information, the mixed relaxivity $r_{\text{mix}}^{\text{OS}}(\infty)$ has a simple theoretical expression given by Equation (24) in terms of the relative diffusion coefficient D and the collision diameter b :

$$r_{\text{mix}}^{\text{OS}}(\infty) = A j_2(0) = \frac{\hat{k}_{\text{solv}}}{Db} \quad (24)$$

where $j_2(0)$ is the zero-frequency value of the OS dipolar spectral density $j_2(\sigma)$. The auxiliary coefficient \hat{k}_{solv} has been introduced to emphasise the $1/(Db)$ dependence of $r_{\text{mix}}^{\text{OS}}(\infty)$. The spectral density $j_2(0)$, and then \hat{k}_{solv} depend on the pair-distribution function g_{IS} of M_I and Gd–L and on the eccentricity vectors ρ_I and ρ_S that give the positions of the spins I and S with respect to the molecule centres in the molecular frames of M_I and

Gd-L.^[90-92] The radii of water, methanol and Gd-L are taken to be those of the spheres of the same volumes as the smallest ellipsoids containing these species. The methanol radius $a_1(\text{methanol}) \cong 2 \text{ \AA}$ is not much larger than the water radius $a_1(\text{water}) \cong 1.4 \text{ \AA}$, and both molecules are significantly smaller than the complexes $[\text{Gd}(\text{dpaa})(\text{H}_2\text{O})_3]$ and $[\text{Gd}(\text{dpaa})_2(\text{H}_2\text{O})]^{3-}$ of radius $a_5 = 4.1$ and 5.1 \AA , respectively. The collision diameter $b = a_1 + a_5$ of a $M_I/\text{Gd-L}$ pair is typically $\cong 6 \text{ \AA}$. The eccentricity distances are $\rho_f \cong 1 \text{ \AA}$ for water and methanol and $\rho_s \cong 0$ for Gd-L, so that the eccentricity parameters $(\rho_f/b)^2$ and $(\rho_s/b)^2$ have small values. The change of \hat{k}_{solv} as a result of the spin eccentricities is typically given by a power series^[91,92] of the eccentricity parameters and keeps modest both for water and methanol, so that the different eccentricity effects for these two molecules cannot cause an appreciable difference of their coefficients \hat{k}_{solv} . Furthermore, in the absence of charge-charge interactions,^[93] the spectral density $j_2(0)$, and hence \hat{k}_{solv} , are weakly affected by the variation of the pair-distribution function g_{IS} induced by the changes in the sizes of M_I and Gd-L. Typically, assuming that water, methanol and Gd-L are hard spheres, the ratio of the \hat{k}_{solv} coefficients for the methanol/Gd-L (m/GdL) and water/Gd-L (w/GdL) pairs is $\hat{k}_{\text{solv}}(\text{m/GdL})/\hat{k}_{\text{solv}}(\text{w/GdL}) = 1$ for centred spins with an accuracy better than 0.5%. The above discussion justifies the fundamental assumption $\hat{k}_{\text{solv}}(\text{m/GdL}) = \hat{k}_{\text{solv}}(\text{w/GdL})$. According to Equation (24), the products $r_{\text{mix}}^{\text{OS}}(\infty)Db$ have the same value for the methanol/GdL and water/GdL pairs as shown by Equation (25):

$$r_{\text{mix,m}}^{\text{OS}}(\infty)D_{\text{m/GdL}}b_{\text{m/GdL}} = r_{\text{mix,w}}^{\text{OS}}(\infty)D_{\text{w/GdL}}b_{\text{w/GdL}} \quad (25)$$

Adduct formation: Theoretical expressions of the longitudinal and transverse relaxivity changes as a result of the binding of the Gd-L complex to another species B will be derived in this section. The analytical concentrations (mol L^{-1}) of complex Gd-L and macromolecule B in the solution are denoted by c_{GdL} and c_{B} , respectively. The complex name may be abbreviated into $\text{C} = \text{Gd-L}$ to simplify the notation. The two situations considered herein are the simple formation of a ternary adduct with a small species B, such as an oxyanion, according to Equation (26):

$$[\text{BC}] = K[\text{B}][\text{C}] \quad (26)$$

where K is the equilibrium constant and the more general binding of several complexes C to a macromolecule B, such as a protein with n equivalent binding sites 1, 2, ..., n . The sites are assumed to be well separated so that they bind the complexes C independently. Assume that $p-1$ complexes ($1 \leq p \leq n$) are bound to B at the different sites i_1, i_2, \dots, i_{p-1} ($1 \leq i_1 \leq n, \dots, 1 \leq i_{p-1} \leq n$) to form the definite $(p-1)$ -adduct $\text{B}(i_1, \dots, i_{p-1})\text{C}_{p-1}$. The binding of another complex C at a vacant site i_p of B to form the definite p -adduct $\text{B}(i_1, \dots, i_p)\text{C}_p$ satisfies the formation equilibrium defined by Equation (27):

$$[\text{B}(i_1, \dots, i_p)\text{C}_p] = k[\text{B}(i_1, \dots, i_{p-1})\text{C}_{p-1}][\text{C}] \quad (27)$$

where k is the binding equilibrium constant per site. Let BC_p represent all the p -adducts made of the macromolecule B and of p complexes irrespective of the binding sites i_1, i_2, \dots, i_p . As all the sites are assumed to be equivalent, the concentration of BC_p is given by Equation (28):

$$[\text{BC}_p] = \sum_{1 \leq i_1 \leq n, \dots, 1 \leq i_p \leq n} [\text{B}(i_1, \dots, i_p)\text{C}_p] = \binom{n}{p} [\text{B}(1, \dots, p)\text{C}_p] \quad (28)$$

where $\binom{n}{p}$ is a binomial coefficient. The p -step formation constant K_p and the overall formation constants β_p are defined by Equation (29):

$$K_p \equiv \frac{n-p+1}{p} k \text{ and } \beta_p \equiv K_1 K_2 \cdots K_p \quad (29)$$

According to Equations (27) and (28), the concentration of BC_p is given in terms of the concentrations $[\text{B}]$ and $[\text{C}]$ of free macromolecule B and complex C by Equation (30):

$$[\text{BC}_p] = \beta_p [\text{B}][\text{C}]^p \quad (30)$$

Substituting the expressions (30) for BC_p in the equations of conservation of the species B and C, the equilibrium concentration $[\text{C}]_{\text{eq}}$ of free complex is the solution of Equation (31):

$$f([\text{C}]) = [\text{C}] + \frac{\sum_{p=1}^n p \beta_p [\text{C}]^p}{1 + \sum_{p=1}^n \beta_p [\text{C}]^p} c_{\text{B}} - c_{\text{GdL}} = 0 \quad (31)$$

Since $f(0) = -c_{\text{GdL}} < 0$ and $f(c_{\text{GdL}}) > 0$, the numerical solution $[\text{C}]_{\text{eq}}$ of Equation (31) is readily obtained with the help of the bisection and/or false position methods.^[94] Thus, in a solution of water containing C and B, the mean number \bar{q} of metal-bound water molecules is given by Equation (32):

$$\bar{q} = \frac{[\text{C}]_{\text{eq}}}{c_{\text{GdL}}} q^{(\text{f})} + \left(1 - \frac{[\text{C}]_{\text{eq}}}{c_{\text{GdL}}}\right) q^{(\text{b})} \quad (32)$$

where $q^{(\text{f})}$ and $q^{(\text{b})}$ are the numbers of metal-bound water molecules for the free (f) and bound (b) complex, respectively. Similarly, the mean relaxivity \bar{r}_α ($\alpha = 1, 2, 1\rho$) of the water protons in that solution is given by Equation (33)

$$\bar{r}_\alpha = \frac{[\text{C}]_{\text{eq}}}{c_{\text{GdL}}} r_\alpha^{(\text{f})} + \left(1 - \frac{[\text{C}]_{\text{eq}}}{c_{\text{GdL}}}\right) r_\alpha^{(\text{b})} \quad (33)$$

where $r_\alpha^{(\text{f})}$ and $r_\alpha^{(\text{b})}$ are the relaxivity values for the free and bound complex, respectively. The number $q^{(\text{f})}$ of metal-bound water molecules and the relaxivity $r_\alpha^{(\text{f})}$ for the free complex can be measured in the absence of species B.

Note that the formation of a ternary adduct of Gd-L with a small species B according to Equation (26) is a particular case of the general binding of several complexes C to a species B with n equivalent binding sites that correspond to $n = 1$ and $K = k$.

Acknowledgements

This research was carried out in the frame of the EC COST Action D-38 "Metal-Based Systems for Molecular Imaging Applications" and the European Molecular Imaging Laboratories (EMIL) network. We thank Colette Lebrun for recording the mass spectra and Dr. Armel Guillermo for advice on using the Drusch electromagnet and the Apollo tecmag console.

- [1] E. Toth, L. Helm, A. Merbach, *The Chemistry of Contrast Agents in Medical Magnetic Resonance Imaging, 1st ed.*, Wiley, Chichester, 2001.
- [2] M. P. Lowe, *Aust. J. Chem.* **2002**, 55, 551–556.
- [3] P. Caravan, *Chem. Soc. Rev.* **2006**, 35, 512–523.
- [4] S. Aime, S. G. Crich, E. Gianolio, G. B. Giovenzana, L. Tei, E. Terreno, *Coord. Chem. Rev.* **2006**, 250, 1562–1579.
- [5] D. A. Fulton, E. M. Elemento, S. Aime, L. Chaabane, M. Botta, D. Parker, *Chem. Commun.* **2006**, 1064–1066.
- [6] M. Botta, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2000**, 399–407.
- [7] P. Caravan, J. J. Ellison, T. J. McMurry, R. B. Lauffer, *Chem. Rev.* **1999**, 99, 2293–2352.
- [8] S. Aime, A. Barge, M. Botta, J. A. K. Howard, R. Katakay, M. P. Lowe, J. Moloney, D. Parker, A. S. de Sousa, *Chem. Commun.* **1999**, 1047–1048.
- [9] S. Aime, E. Gianolio, E. Terreno, G. B. Giovenzana, R. Pagliarin, M. Sisti, G. Palmisano, M. Botta, M. P. Lowe, D. Parker, *J. Biol. Inorg. Chem.* **2000**, 5, 488–497.

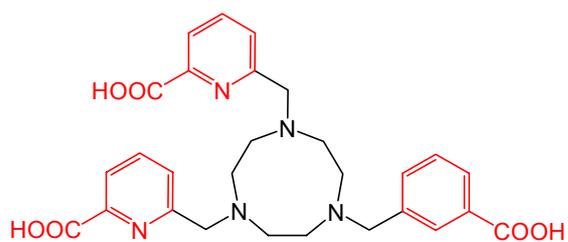
- [10] C. Galdes, A. D. Sherry, P. Vallet, F. Maton, R. N. Muller, T. D. Mody, G. Hemmi, J. L. Sessler, *J. Mater. Chem. J. Magn. Res. Imag.* **1995**, *5*, 725–729.
- [11] M. Botta, S. Aime, A. Barge, G. Bobba, R. S. Dickins, D. Parker, E. Terreno, *Chem. Eur. J.* **2003**, *9*, 2102–2109.
- [12] E. Terreno, M. Botta, P. Boniforte, C. Bracco, L. Milone, B. Mondino, F. Uggeri, S. Aime, *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 5531–5537.
- [13] P. Caravan, J. C. Amedio, S. U. Dunham, M. T. Greenfield, N. J. Cloutier, S. A. McDermid, M. Spiller, S. G. Zech, R. J. Looby, A. M. Raitsimring, T. J. McMurphy, R. B. Lauffer, *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 5866–5874.
- [14] R. S. Dickins, S. Aime, A. S. Batsanov, A. Beeby, M. Botta, J. Bruce, J. A. K. Howard, C. S. Love, D. Parker, R. D. Peacock, H. Puschmann, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 12697–12705.
- [15] L. Burai, V. Hietapelto, R. Kiraly, E. Toth, E. Brücher, *Magn. Reson. Med.* **1997**, *38*, 146–150.
- [16] J. L. Sessler, T. D. Mody, G. W. Hemmi, V. Lynch, *Inorg. Chem.* **1993**, *32*, 3175–3187.
- [17] D. Messeri, M. P. Lowe, D. Parker, M. Botta, *Chem. Commun.* **2001**, 2742–2743.
- [18] S. Aime, L. Calabi, C. Cavallotti, E. Gianolio, G. Giovenzana, P. Losi, A. Maiocchi, G. Palmisano, M. Sisti, *Inorg. Chem.* **2004**, *43*, 7588–7590.
- [19] S. Hajela, M. Botta, S. Giraud, J. D. Xu, K. N. Raymond, S. Aime, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 11228–11229.
- [20] V. C. Pierre, M. Botta, S. Aime, K. N. Raymond, *Inorg. Chem.* **2006**, *45*, 8355–8364.
- [21] C. J. Sunderland, M. Botta, S. Aime, K. N. Raymond, *Inorg. Chem.* **2001**, *40*, 6746–6756.
- [22] A. Borel, H. Kang, C. Gateau, M. Mazzanti, R. B. Clarkson, R. L. Belford, *J. Phys. Chem. A* **2006**, *110*, 12434–12438.
- [23] A. Nonat, C. Gateau, P. H. Fries, M. Mazzanti, *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 7133–7150.
- [24] E. Balogh, M. Mato-Iglesias, C. Platas-Iglesias, E. Toth, K. Djanashvili, J. A. Peters, A. de Blas, T. Rodriguez-Blas, *Inorg. Chem.* **2006**, *45*, 8719–8728.
- [25] P. H. Fries, C. Gateau, M. Mazzanti, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 15801–15814.
- [26] N. Chatterton, C. Gateau, M. Mazzanti, J. Pécaut, A. Borel, L. Helm, A. E. Merbach, *Dalton Trans.* **2005**, 1129–1135.
- [27] C. Platas-Iglesias, M. Mato-Iglesias, K. Djanashvili, R. N. Muller, L. V. Elst, J. A. Peters, A. de Blas, T. Rodriguez-Blas, *Chem. Eur. J.* **2004**, *10*, 3579–3590.
- [28] C. Gateau, M. Mazzanti, J. Pécaut, F. Dunand, A. L. Helm, *Dalton Trans.* **2003**, 2428–2433.
- [29] Y. Bretonnière, M. Mazzanti, F. A. Dunand, A. E. Merbach, J. Pécaut, *Chem. Commun.* **2001**, 621.
- [30] Y. Bretonnière, M. Mazzanti, F. A. Dunand, A. E. Merbach, J. Pécaut, *Inorg. Chem.* **2001**, *40*, 6737–6745.
- [31] R. Wietzke, M. Mazzanti, J.-M. Latour, J. Pécaut, P.-Y. Cordier, C. Madic, *Inorg. Chem.* **1998**, *37*, 6690–6697.
- [32] C. F. G. C. Galdes, M. C. Alpoim, M. P. M. Marques, A. D. Sherry, M. Singh, *Inorg. Chem.* **1985**, *24*, 3876–3881.
- [33] Z. Zheng, *Chem. Commun.* **2001**, 2521–2529.
- [34] L. Natrajan, J. Pécaut, M. Mazzanti, *Dalton Trans.* **2006**, 1002–1005.
- [35] L. Natrajan, J. Pécaut, M. Mazzanti, C. LeBrun, *Inorg. Chem.* **2005**, *44*, 4756–4765.
- [36] A. S. W. Bligh, N. Choi, E. Evagourou, G. , M. McPartlin, K. N. White, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **2001**, 3169–3172.
- [37] W. K. Wong, L. L. Zhang, F. Xue, T. C. W. Mak, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **1999**, 3053–3062.
- [38] W. J. Evans, G. W. Rabe, J. W. Ziller, *Inorg. Chem.* **1994**, *33*, 3072–3078.
- [39] A. J. Stemmler, J. W. Kampf, M. L. Kirk, B. H. Atasi, V. L. Pecoraro, *Inorg. Chem.* **1999**, *38*, 2807–2817.
- [40] A. Bianchi, L. Calabi, F. Corana, S. Fontana, P. Losi, A. Maiocchi, L. Paleari, B. Valtancoli, *Coord. Chem. Rev.* **2000**, *204*, 309–393.
- [41] G. Anderegg, F. Wenk, *Helv. Chim. Acta* **1967**, *50*, 2330–2332.
- [42] G. R. Choppin, P. Thakur, J. N. Mathur, *Coord. Chem. Rev.* **2006**, *250*, 936–947.
- [43] L. C. Thompson, J. A. Loraas, *Inorg. Chem.* **1963**, *2*, 89–93.
- [44] A. Beeby, I. M. Clarkson, R. S. Dickins, S. Faulkner, D. Parker, L. Royle, A. S. de Sousa, G. J. A. Williams, M. Woods, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1999**, 493–503.
- [45] W. D. Horrocks, Jr., D. R. Sudnick, *Acc. Chem. Res.* **1981**, *14*, 384–392.
- [46] W. D. Horrocks, Jr., D. R. Sudnick, *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, *101*, 334–340.
- [47] V. S. Sastri, J.-C. Bünzli, V. Ramachandra Rao, G. V. S. Rayudu, J. R. Perumareddi, *Modern Aspects of Rare Earths and Their Complexes*, Elsevier, Amsterdam, **2003**.
- [48] F. Benetollo, G. Bombieri, L. Calabi, S. Aime, M. Botta, *Inorg. Chem.* **2003**, *42*, 148–157.
- [49] L. I. Semenova, A. N. Sobolev, W. B. Skelton, A. H. White, *Aust. J. Chem.* **1999**, *52*, 507–517.
- [50] G. Geier, U. Karlen, *Helv. Chim. Acta* **1971**, *54*, 135–143.
- [51] R. B. Lauffer, *Chem. Rev.* **1987**, *87*, 901–927.
- [52] A. Jerschov, N. Muller, *J. Magn. Reson.* **1997**, *125*, 372–375.
- [53] A. Melchior, P. H. Fries, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 7424–7425.
- [54] L. Vander Elst, A. Sessoye, S. Laurent, N. R. Muller, *Helv. Chim. Acta* **2005**, *88*, 574–587.
- [55] P. Caravan, A. V. Astashkin, A. M. Raitsimring, *Inorg. Chem.* **2003**, *42*, 3972–3974.
- [56] A. Nonat, L. Helm, M. Mazzanti, unpublished results; H. D. Powell, O. M. N. Ni Dhubhghaill, D. Pubanz, L. Helm, Y. S. Lebedev, W. Schlaepfer, A. E. Merbach, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 9333–9346.
- [57] F. A. Dunand, A. Borel, L. Helm, *Inorg. Chem. Commun.* **2002**, *5*, 811–815.
- [58] A. C. Chang, H. G. Brittain, J. Telser, M. F. Tweedle, *Inorg. Chem.* **1990**, *29*, 4468–4473.
- [59] S. Rast, A. Borel, L. Helm, E. Belorizky, P. H. Fries, A. E. Merbach, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 2637–2644.
- [60] Y. Ayant, E. Belorizky, E. Alison, J. Gallice, *J. Phys. Chem. Solids J. Phys. (France)* **1975**, *36*, 991–1004.
- [61] L. Hwang, J. H. Freed, *J. Chem. Phys.* **1975**, *63*, 4017–4025.
- [62] W. P. Cacheris, S. C. Quay, S. M. Rockalage, *Magn. Reson. Imaging* **1990**, *8*, 467–481.
- [63] S. Aime, M. Botta, I. J. Bruce, V. Mainero, D. Parker, E. Terreno, *Chem. Commun.* **2001**, 115–116.
- [64] J. I. Bruce, R. S. Dickins, L. J. Govenlock, T. Gunnlaugsson, S. Lopinski, M. P. Lowe, D. Parker, R. D. Peacock, J. J. B. Perry, S. Aime, M. Botta, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 9674–9684.
- [65] H. A. Krebs, *Annu. Rev. Biochem.* **1950**, *19*, 409–430.
- [66] A. E. Merbach, E. Toth, *The Chemistry of Contrast Agents in Medical Magnetic Resonance Imaging*, Wiley, Chichester, **2001**.
- [67] D. M. J. Doble, M. Melchior, B. O'Sullivan, C. Siering, J. D. Xu, V. C. Pierre, K. N. Raymond, *Inorg. Chem.* **2003**, *42*, 4930–4937.
- [68] R. B. Lauffer, *Magn. Reson. Med.* **1991**, *22*, 339–342.
- [69] S. Aime, M. Botta, M. Fasano, G. S. Crich, E. Terreno, *J. Biol. Inorg. Chem.* **1996**, *1*, 312–319.
- [70] P. Caravan, N. J. Cloutier, M. T. Greenfield, S. A. McDermid, S. U. Dunham, J. W. M. Bulte, J. C. Amedio, R. J. Looby, R. M. Supkowski, W. D. Horrocks, T. J. McMurphy, R. B. Lauffer, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 3152–3162.
- [71] P. Caravan, C. Comuzzi, W. Crooks, T. J. McMurphy, G. R. Choppin, S. R. Woulfe, *Inorg. Chem.* **2001**, *40*, 2170–2176.
- [72] M. H. Ou, C. H. Tu, S. C. Tsai, W. T. Lee, G. C. Liu, Y. M. Wang, *Inorg. Chem.* **2006**, *45*, 244–254.
- [73] M. K. Thompson, D. M. J. Doble, L. S. Tso, S. Barra, M. Botta, S. Aime, K. N. Raymond, *Inorg. Chem.* **2004**, *43*, 8577–8586.
- [74] J. Hamblin, N. Abboyi, M. P. Lowe, *Chem. Commun.* **2005**, 657–659.
- [75] I. Bertini, C. Luchinat, G. Parigi, *Solution NMR of Paramagnetic Molecules*, Elsevier, Amsterdam, **2001**.
- [76] P. H. Fries, E. Belorizky, *J. Chem. Phys.* **2005**, *123*, 124510–124515.
- [77] S. Aime, M. Botta, E. Terreno, *Adv. Inorg. Chem.* **2005**, *57*, 173–237.
- [78] A. Borel, L. Helm, A. E. Merbach, *Chem. Eur. J.* **2001**, *7*, 600–610.

- [79] R. Fornasier, D. Milani, P. Scrimin, U. Tonellato, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1986**, 233–237.
- [80] K. Mikkelsen, S. O. Nielsen, *J. Phys. Chem.* **1960**, *64*, 632–637.
- [81] A. E. Martell, R. M. Smith, *Critical Stability Constants, Vol. 4*, Plenum Press, New York, **1976**.
- [82] P. Gans, A. Sabatini, A. Vacca, *Talanta* **1996**, *43*, 1739–1753.
- [83] P. Gans, A. Sabatini, A. Vacca, University of Leeds and University of Florence, Leeds, UK and Florence, Italy, **2000**.
- [84] Bruker, Madison, WI, USA, **1995**.
- [85] G. M. Sheldrick, 6.14 ed., University of Göttingen, Germany, Germany, **2006**.
- [86] A.-S. Chauvin, F. Gumy, D. Imbert, J.-C. Bünzli, *Spectrosc. Lett.* **2004**, *37*, 517–532.
- [87] D. F. Eaton, *Pure Appl. Chem.* **1988**, *60*, 1107.
- [88] G. Brunisholz, M. Randin, *Helv. Chim. Acta* **1959**, *42*, 1927–1938.
- [89] D. Canet, *Adv. Inorg. Chem.* **2005**, *57*, 3–40.
- [90] Y. Ayant, E. Belorizky, P. Fries, J. Rosset, *J. Phys. (France)* **1977**, *38*, 325–337.
- [91] P. Fries, E. Belorizky, *J. Phys. (France)* **1978**, *39*, 1263–1282.
- [92] P. H. Fries, B. Melloni-Rigobello, *J. Phys. (France)* **1982**, *43*, 1397–1405.
- [93] P. H. Fries, G. N. Patey, *J. Chem. Phys.* **1984**, *80*, 6253–6266.
- [94] W. H. Press, B. P. Flannery, S. A. Teukolsky, W. T. Vetterling, *Numerical Recipes. The Art of Scientific Computing*, Cambridge University Press, Cambridge, **1990**.

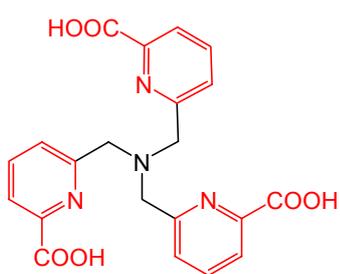
Received: December 21, 2006

Revised: March 22, 2007

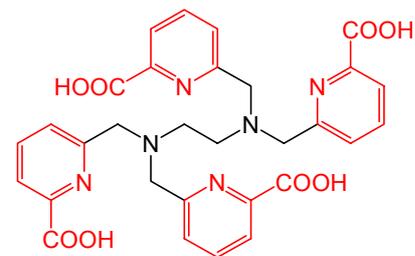
Published online: July 20, 2007



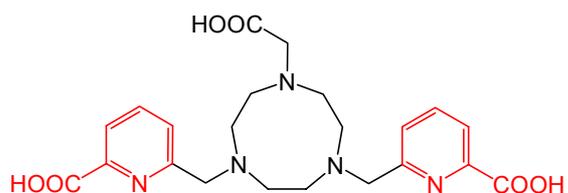
H₃tpatcn



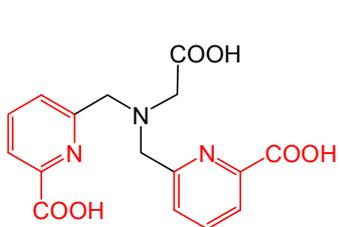
H₃tpaa



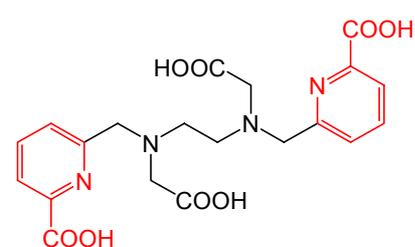
H₄tpaen



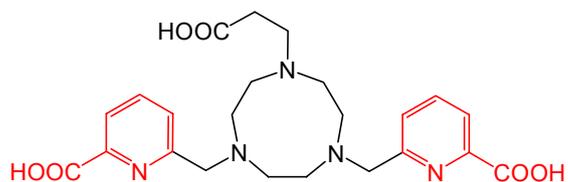
H₃bpatcn



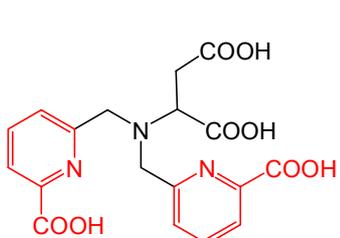
H₃dpaa



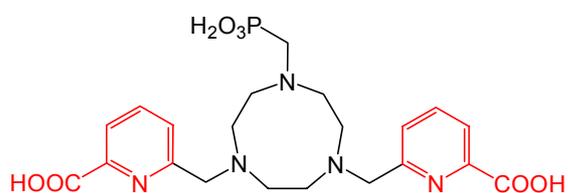
H₄bpeda



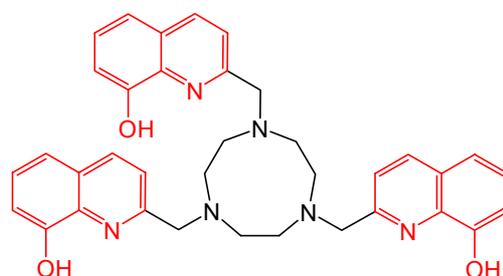
H₃ebpatcn



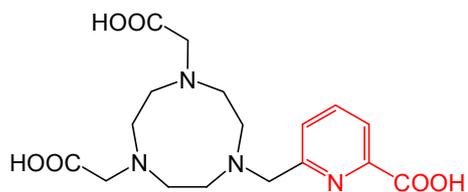
H₄dpaba



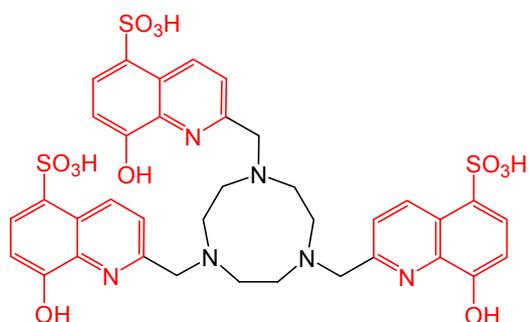
H₄pbpatcn



H₃thqtcn



H₃mpatcn



H₆thqtcn-SO₃

RESUME

Afin d'accéder à des agents de contraste efficaces, il est essentiel d'optimiser simultanément les paramètres moléculaires influençant la relaxivité : nombre de molécules d'eau en première sphère de coordination, échange de l'eau, dynamique de rotation du complexe, relaxation électronique, distance Gd(III)-proton. Le but de ce travail est double. D'une part, il s'agit de concevoir et étudier des complexes possédant un nombre élevé de molécules d'eau coordonnées et de comprendre l'influence de la sphère de coordination du métal sur la stabilité des complexes et la relaxation électronique. D'autre part, nous avons utilisé les ligands comme chromophores pour la mise au point de sondes luminescentes pour l'imagerie biomédicale.

Nous présentons la structure, la stabilité et la relaxivité de complexes de Gd(III) de deux séries de ligands tripodes dérivés du picolinate basés, soit sur le cycle 1,4,7-triazacyclononane, soit sur un pivot amine tertiaire. Ces complexes possèdent une relaxivité élevée dans l'eau et dans le sérum et peuvent former des interactions non-covalentes avec l'albumine sérique. L'interprétation de la relaxivité des protons de l'eau au moyen de nouvelles méthodes relaxométriques basées sur l'utilisation de solutés sondes nous a permis de montrer que la présence de groupement picolinate et du cycle 1,4,7-triazacyclononane pouvait conduire à des complexes de Gd(III) possédant des propriétés de relaxation électronique favorables.

Du fait de la présence de chromophores picolinate, les complexes d'Eu(III) et Tb(III) avec ces ligands donnent lieu à une luminescence intense dans le visible. D'autres complexes dérivés de l'unité 8-hydroxyquinoléine possèdent une luminescence élevée dans l'infrarouge et ont également été étudiés.

Mots clés : lanthanide, gadolinium, tripodes azotés, picolinate, hydroxyquinoléine, luminescence, relaxométrie.

ABSTRACT

The simultaneous optimisation of the molecular parameters determining the relaxivity (number of coordinated water molecules, water-exchange, rotation dynamics of the whole complex, electronic relaxation, Gd(III)-proton distance) is essential to prepare efficient contrast agents. The aim of this work is on the one hand to design and study complexes with a high number of bound water molecules and to understand the influence of the coordination sphere on the stability and on the electronic relaxation and on the other hand, to use the ligand as a chromophore for the development of luminescent probes for biomedical imaging.

We present the structure, the stability and the relaxivity of Gd(III) complexes of two series of tripodal ligands containing picolinate units based either on the 1,4,7-triazacyclononane ring or on a tertiary amine. These complexes show high relaxivity in water and in serum and can establish a non covalent interaction with serum albumin. The interpretation of the water proton relaxivity with the help of new relaxometric methods based on an auxiliary probe solute has allowed us to show that both the presence of the picolinate groups and the 1,4,7-triazacyclononane framework can lead to Gd(III) complexes with favourable electronic relaxation properties.

This ligands have also been used for Eu(III) and Tb(III) complexation leading to strong luminescence in visible light. Other complexes derived from 8-hydroxyquinoline unit which display a very high luminescence in infrared are also studied.

Keywords : lanthanide, gadolinium, N ligands, tripodes, picolinate, hydroxyquinoline, luminescence, relaxometry.